

Serumparathormoon en cAMP-excretie in de urine bij
normo- en hypercalciaemie

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE
AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
PROF. DR. J. SPERNA WEILAND
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP
VRIJDAG 26 NOVEMBER 1982 DES NAMIDDAGS
TE 3.45 UUR

DOOR

PAUL CHRISTIAAN VAN DER VELDEN
GEBOREN TE SCHIEDAM

PROMOTOREN : PROF. DR. J. GERBRANDY
PROF. DR. M.A.D.H. SCHALEKAMP

CO-REFERENT : PROF. DR. B. LEIJNSE

Aan Gerrie
Sebastiaan
Alexander
Martijn.

VOORWOORD

Dit proefschrift werd bewerkt op de afdeling Interne Geneeskunde van het Bergweg Ziekenhuis te Rotterdam. Allen die hebben meegewerkt aan het tot stand komen van dit proefschrift ben ik bijzonder dankbaar.

Dr. J. Silberbusch, hoofd van de afdeling Interne Geneeskunde II van het Bergweg Ziekenhuis, die de eerste aanzet gaf tot de in dit proefschrift beschreven onderzoeken. Zonder zijn voortdurend meedenken, de vele gedachtenwisselingen en zijn kritische kanttekeningen bij het tot stand komen van het manuscript had dit proefschrift niet gerealiseerd kunnen worden.

Prof. Dr. J. Gerbrandy en Prof. Dr. M.A.D.H. Schalekamp, die bereid waren als mijn promotoren op te treden en mij tijdens het bewerken van het manuscript met hun opbouwende kritiek hebben willen begeleiden.

Dr. G.J.H. den Ottolander, mijn opleider, die mij de gelegenheid gaf dit onderzoek uit te voeren.

Dr. W. Schopman en Dr. W.H.L. Hackeng, hoofden van het Endocrinologisch Laboratorium van de Gemeente Rotterdam, ben ik dankbaar voor de vele bepalingen van hormoon- en CAMP concentraties in bloed en urine.

Dr. G. Koorevaar en mej. G. Appeldoorn dank ik voor het uitvoeren van de vele biochemische bepalingen.

De medewerkers van de onderzoekcentrale voor hun steeds enthousiaste en nauwgezette hulp bij de uitvoering van de diverse proeven.

Mej. T. Egberts voor het verzamelen van de literatuur.

Mej. C. Swaab voor haar hulp bij de verzorging van de illustraties.

Dr. H. Mulder voor het verwijzen van enkele patiënten.

Tenslotte wil ik Gerrie danken voor de hulp die zij mij bood bij de administratie nodig voor het tot stand komen van dit proefschrift en voor het geduld waarmee zij en de kinderen mijn afwezigheid in het gezinsleven gedurende lange tijd hebben geaccepteerd.

LIJST VAN AFKORTINGEN

cAMP	: adenosine 3'5' monofosfaat
Δ cAMP excretie:	de stijging van de cAMP excretie in de urine (in nmol/100 cc GF) tijdens de EDTA infusie-test berekend als het verschil in cAMP excretie tijdens het tweede infusie uur en de controleperiode
cGMP	: cyclisch guanosine monofosfaat
1,25 DHCC	: 1,25 dihydroxycholecalciferol
DNA	: desoxyribonucleïnezuur
EDTA	: ethyleen diamine tetraacetaatzuur
GTP	: guanosine trifosfaat
GDP	: guanosine difosfaat
25 HCC	: 25 hydroxycholecalciferol
iPTH	: (concentratie) immunoreactief bijschildklierhormoon
\bar{i} PTH	: de tijdens de EDTA infusietest per uur gemiddelde iPTH concentratie in het bloed
Δ iPTH	: de stijging van de bijschildklierhormoonconcentratie in het bloed tijdens de EDTA infusietest berekend als het verschil tussen de \bar{i} PTH tijdens het tweede infusie uur en de \bar{i} PTH tijdens de controleperiode
NcAMP	: nefrogene cAMP-excretie (nmol/100 cc GF)
PcAMP	: cAMP concentratie in het plasma
PHP	: primaire hyperparathyreoïdie
PTX proefdier	: Een proefdier waarbij de bijschildklieren verwijderd zijn
RNA	: ribonucleïnezuur
RP	: regulerend proteïne, het eiwit dat de schakel vormt tussen het hormoonreceptorcomplex en de activering van het adenylcyclase
TmPO ₄ /GFR	: tubulaire terugresorptie van fosfaat, berekend op de wijze beschreven door Walton en Bijvoet (1975)
UcAMP	: cAMP concentratie in de urine

SERUMPARATHORMOON EN CAMP EXCRETIE IN DE URINE BIJ NORMO- EN
HYPERCALCIAEMIE

Pag.

Voorwoord.

Lijst van afkortingen.

1.	Historische inleiding.	1
2.	De oorsprong van het cAMP in bloed en urine.	3
2.1	De fysiologische rol van het cAMP als schakel tussen de hormoonreceptor en het biologisch effect van de responderende cel.	3
2.2	De oorsprong en eliminatie van het plasma cAMP.	10
2.3	De oorsprong van het cAMP in de urine.	13
2.4	Parametrische expressiewijze van de cAMP excretie in de urine.	13
2.5	Variabiliteit van de cAMP excretie in de urine; reproduceerbaarheid en dagnachtritme.	15
3.	De invloed van enkele hormonen op de plasmacAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine.	16
3.1	Bijschildklierhormoon.	16
3.2	β -adrenoceptoren.	20
3.3	Antidiuretisch hormoon.	22
3.4	Andere hormonale invloeden.	23
4.	Enkele technische aspecten betreffende de cAMP bepaling in bloed en urine; de invloed van zware lichamelijke arbeid en veneuze stuwung.	26
4.1	De cAMP bepaling in bloed en urine.	26
4.2	De verzorging van urinemonsters.	26
4.2.1	Inleiding.	
4.2.2	Proefopstelling.	
4.2.3	Resultaten.	
4.2.4	Bespreking.	
4.3	De verzorging van bloedmonsters.	30
4.3.1	Inleiding.	
4.3.2	Proefopstelling.	
4.3.3	Resultaten.	
4.3.4	Bespreking.	
4.4	De variabiliteit van de cAMP bepaling.	35
4.5	De invloed van lichamelijke inspanning op de plasma cAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine.	35
4.5.1	Proefopstelling.	
4.5.2	Resultaten.	
4.5.3	Bespreking.	

4.6	De invloed van veneuze stuwung op de plasma concentratie.	39
4.6.1	Inleiding.	
4.6.2	Proefopstelling.	
4.6.3	Resultaten.	
4.6.4	Bespreking.	
5.	Vraagstellingen van het onderhavige onderzoek.	42
6.	Methoden en normaalwaarden	44
6.1	Chemische methodieken en normaalwaarden.	44
6.2	Statistische methoden.	44
6.3	De PTH bepaling.	44
6.4	cAMP metingen in bloed en urine	46
6.4.1	De cAMP bepaling in bloed en urine.	
6.4.2	Gestandariseerde omstandigheden bij cAMP metingen in bloed en urine in basale toestand.	
6.4.3	Controlegroep.	
6.4.4	Resultaten en bespreking.	
6.5	De TMP_{O_4} /GFR, TRP en nuchtere calcium excretie.	48
7.	De stijging van de cAMP excretie in de urine als gevolg van acute toename van de PTH secretie; een vergelijkend onderzoek bij patiënten met primaire hyperparathyreoïdie, vitamine D deficiëntie en een niersteenlijden.	53
7.1	Inleiding.	53
7.2	Patiënten en methoden.	55
7.3	Resultaten.	61
7.3.1	De serumcalciumconcentratie tijdens het controleuur.	
7.3.2	Het iPTH en de cAMP excretie tijdens het controleuur.	
7.3.3	De ΔiPTH en de ΔcAMP excretie in het tweede infusie uur.	
7.3.4	De relatie tussen het iPTH en de cAMP excretie tijdens de EDTA infusietest.	
7.3.5	De relatie tussen de ΔiPTH en de ΔcAMP excretie.	
7.3.6	De PTH sensitiviteitsindex.	
7.3.7	De relatie tussen het basale iPTH en de sensitiviteitsindex bij PHP.	
7.3.8	De relatie tussen de basale serumcalciumconcentratie en de sensitiviteitsindex bij PHP.	
7.3.9	De plasma cAMP concentratie tijdens de EDTA infusietest.	

7.4	Bespreking.	83
7.4.1	De bruikbaarheid van het model.	
7.4.2	De controlegroep.	
7.4.3	De PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij PHP.	
7.4.4	De PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij vitamine D deficiëntie.	
7.4.5	Enkele hypothesen betreffende de oorzaak van de verschillende PTH gevoeligheid bij de onderzochte patiëntengroepen.	
7.5	Conclusies.	91
8.	De veranderingen in de calcium en fosfaatconcentratie in het bloed tijdens EDTA infusie	92
8.1	Inleiding.	92
8.2	Methoden.	92
8.3	Resultaten.	93
8.4	Bespreking.	98
8.4.1	Veranderingen in de serumcalciumconcentratie.	
8.4.2	Veranderingen in de serumfosfaatconcentratie.	
9.	De invloed van cimetidine op de serum iPTH concentratie en de biologische activiteit van PTH bij primaire hyperparathyreoïdie.	108
9.1	Inleiding en vraagstelling.	108
9.2	Patiënten en proefopstelling.	108
9.3	Resultaten.	109
9.4	Bespreking.	112
9.5	Conclusies.	115
10.	De invloed van propranolol op de bij schildklier activiteit bij patiënten met hypertensie	116
10.1	Inleiding.	116
10.2	Patiënten en proefopstelling.	117
10.3	Bespreking.	119
10.4	Conclusies.	119
11.	De cAMP excretie in de urine bij patiënten met maligne tumoren	125
11.1	Inleiding.	125
11.2	Patiënten en methoden.	126

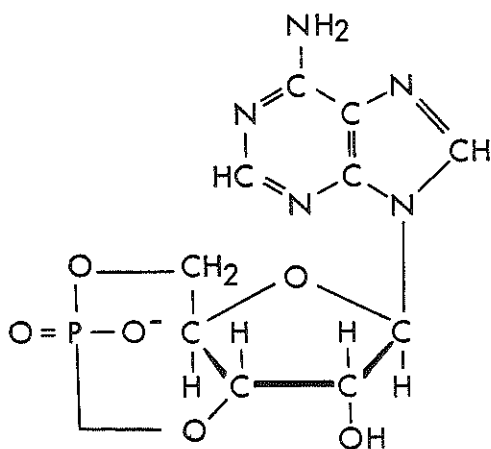
11.3 Resultaten.	127
11.3.1 Hypercalciaemische tumorpatiënt	
11.3.2 De normocalciaemische tumorpatiënt	
11.3.3 Resultaten van de indomethacinebehandeling	
11.4 Bespreking.	139
11.5 Conclusies.	144
 Samenvatting.	 145
 Summary	 150

LITERATUURREFERENTIES

Curriculum vitae

1. HISTORISCHE INLEIDING

Adenosine 3'5' monofosfaat (3'5'-AMP, cAMP) werd in 1957 gelijktijdig door onderzoekers van twee verschillende laboratoria geïdentificeerd. Een van deze groepen, bestaand uit Cook, Lipin en Harkham en verbonden aan de Washington University, ontdekte dat deze stof gevormd wordt tijdens verhitting van adenosine trifosfaat (ATP) met bariumhydroxide. In hetzelfde jaar isoleerden Sutherland en Rall, verbonden aan de Western Reserve University te Cleveland een warmtestabiele stof na toevoeging van epinefrine of glucagon aan leverweefsel. Toen de twee groepen de door hen geïdentificeerde stoffen uitwisselden, bleek de door Cook c.s. gesynthetiseerde stof biologisch actief te zijn en dezelfde chemische en fysische eigenschappen te bezitten als de door Sutherland en Rall geïsoleerde stof. Het molecuul bleek opgebouwd uit een purinering (adenine), gekoppeld aan een pentosesuiker (β -D-ribose); de hydroxylgroepen gekoppeld aan het derde en vijfde koolstofatoom van de pentosering vormen een ester met de fosfaatgroep (figuur 1.1).



Figuur 1.1

De structuurformule van 3'5'-AMP (Haynes e.a. 1960).

Spoedig bleek dat cAMP in tal van weefsels gevormd wordt om de rol van "second messenger" voor verschillende hormonen te spelen (Haynes e.a. 1960, Sutherland en Rall 1960); de stof wordt in de receptorcel gevormd uit ATP, dat onder invloed van het enzym adenylcyclase gesplitst wordt in 3'5'-AMP en pyrofosfaat (Sutherland e.a. 1962, Rall en Sutherland 1962). Enzymatische degradatie van cAMP bleek in vivo plaats te vinden onder invloed van het enzym fosfodiesterase, waardoor 3'5'AMP omgezet wordt in 5'AMP (Butcher en Sutherland 1962).

cAMP werd aangetoond in zowel plasma (Butcher en Sutherland 1962, Broadus e.a. 1970a) als in urine (Butcher en Sutherland 1962; Ashman e.a. 1963). Het in de urine geïdentificeerde cAMP bleek te bestaan uit door de glomeruli gefiltreerd plasma cAMP en uit in de niertubuluscellen gevormd en aan de urine toegevoegd cAMP ("nefrogeen cAMP"; Broadus e.a. 1970a).

De cAMP bepaling deed als diagnostisch hulpmiddel zijn intrede in de kliniek toen bleek dat patiënten met pseudohypoparathyreoidie in tegenstelling tot gezonden na PTH infusie geen toename van de cAMP excretie in de urine vertoonden (Chase e.a. 1969b). Later werd duidelijk dat de nefrogene cAMP excretie een goede maat is voor de PTH activiteit bij de individuele patiënt en daarom bruikbaar is bij de diagnostiek van de primaire hyperparathyreoidie (Broadus e.a. 1977, Shaw e.a. 1977, Schmidt-Gayk e.a. 1977). Kortgeleden meldden Steward e.a. (1980a) dat sommige maligne tumoren een substantie produceren, die in een aantal opzichten afwijkt van PTH en eveneens in staat is, de productie van nefrogeen cAMP te stimuleren.

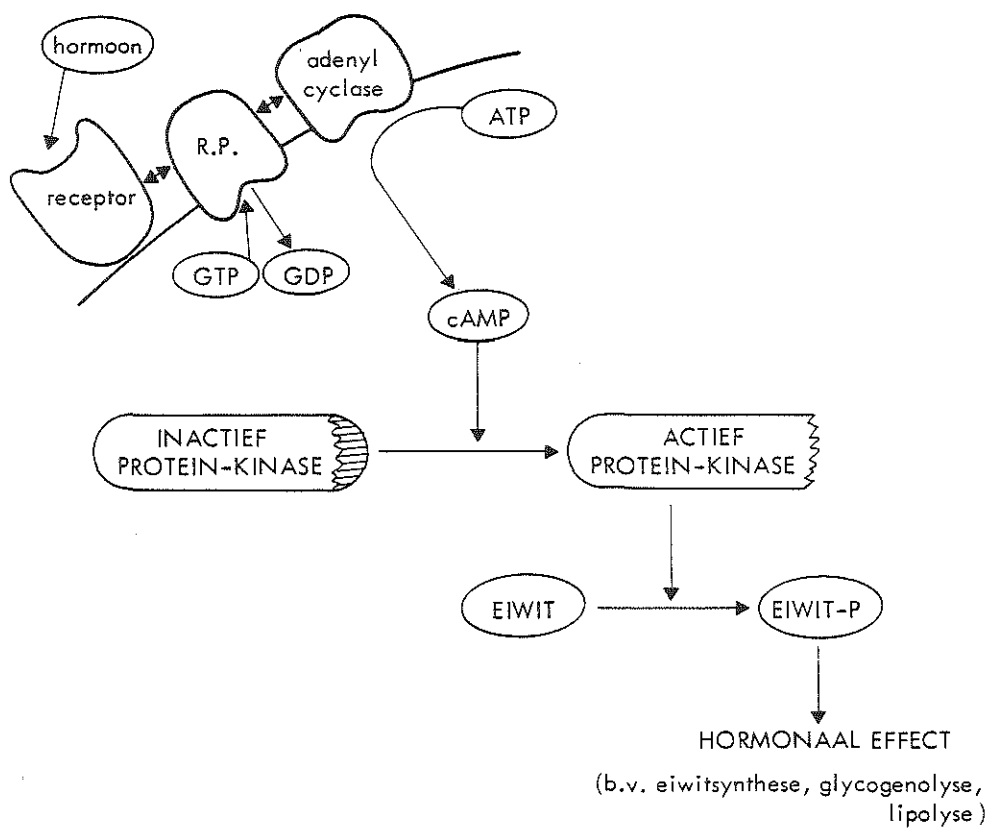
2. DE OORSPRONG VAN HET cAMP IN BLOED EN URINE

2.1 De fysiologische rol van cAMP als schakel tussen de hormoonreceptor en het biologisch effect van de responderende cel

De rol van cAMP als schakel in de receptorcel is schematisch samengevat in figuur 2.1.

Receptoren voor polypeptidehormonen en neurotransmitters bevinden zich aan de buitenkant van de celmembraam (Kahn 1976, Baxter en Funder 1979). Bij een aantal van deze hormonen resulteert de binding tussen hormoon en receptor in activering van het enzym adenylcyclase, dat aan de binnenzijde van de celmembraam gelokaliseerd is (Cuatrecasas 1974, Rodbell e.a. 1970). Adenylcyclase fungeert in dit geval als "effector" (zet de biologische response in gang) door vorming van cAMP uit ATP. Een aantal hormonen waarvan aangetoond is dat zij in de receptorcel de cAMP-concentratie doen toenemen, staan vermeld in tabel I.1.

Het hormoonreceptorcomplex activeert het adenylcyclase niet direct; activatie vindt plaats via het "guanine regulatory protein" (RP) (Rodbell 1980, Johnson e.a. 1980) dat mogelijk weer uit meerdere afzonderlijke componenten is opgebouwd (Welton e.a. 1977, Johnson e.a. 1980). Van een aantal hormonen is aangetoond dat activatie van adenylcyclase alleen kan plaatsvinden in aanwezigheid van GTP (Ross e.a. 1978, Rodbell e.a. 1970a) dat waarschijnlijk onder invloed van het hormoonreceptorcomplex aan het RP gebonden wordt en GDP, dat in de basale staat aan het RP gebonden is, verdringt (Pfeuffer 1979, Rodbell 1980). GTP wordt, gebonden aan het RP, snel gehydrolyseerd tot GDP onder invloed van het enzym GTP-ase; inhibitie van deze GTP-ase activiteit door bijvoorbeeld choleratoxine heeft een voortdurende adenylcyclaseactivering tot gevolg (Cassel en Sellinger 1977; Sharp en Hynie 1971) terwijl niet hydrolyseerbare GTP-analogen in vitro in staat zijn een krachtige en voortdurende adenylcyclaseactivering te bewerkstelligen (Londos e.a. 1974).



Figuur 2.1
De rol van cAMP als schakel in de receptorcel.

adrenocorticotroop hormoon (ACTH)
calcitonine
catecholamines (β -adrenergisch)
humaan choriongonadotrofine (HCG)
follikelstimulerend hormoon (FSH)
glucagon
luteiniserend hormoon (LH)
LH releasing hormoon (LHRH)
melanoforen stimulerend hormoon (MSH)
bij schildklierhormoon (PTH)
prostaglandine E1
thyreoid releasing hormoon (TRH)
vasopressine (ADH)
thyreoid stimulerend hormoon (TSH)

Tabel I.1: hormonen welke in de receptorcel de cAMP
concentratie toenemen (ontleend aan: Baxter
en Funder 1979).

Volgens Cassel en Sellinger (1977) stimuleert het hormoon enerzijds activatie van het adenylcyclase doordat onder invloed van het hormoonreceptorcomplex aan het RP gebonden GDP vervangen wordt door GTP terwijl het hormoonreceptorcomplex anderzijds de GTP-ase activiteit stimuleert, waardoor het adenylcyclase terug zou vallen naar de inactieve staat indien niet voortdurend de binding van nieuw GTP aan het RP gestimuleerd zou worden. In overeenstemming hiermee maakten Rendell e.a. (1977) en Levitzki (1977) met een mathematisch model aannemelijk dat de voortdurende afbraak van GTP een bepalende factor is voor de mate waarin een hormonale stimulus adenylcyclaseactivering tot gevolg heeft.

GTP beïnvloedt niet alleen mede de mate van adenylcyclaseactivering, doch lijkt ook de mate waarin de receptor vrij hormoon bindt, te beïnvloeden: van o.a. glucagon (Rodbell e.a. 1970a), angiotensine (Glossman e.a. 1974) en β -agonisten (Ross e.a. 1977) kon worden aangetoond dat GTP de bindingsaffiniteit van de membraamreceptor voor het betreffende hormoon doet afnemen.

In de hormonaal niet gestimuleerde staat lijken de hormoonreceptor en het adenylcyclase fysisch niet aan elkaar gebonden structuren te zijn (Cuatrecasas 1974; Johnson e.a. 1980). Singer en Nicolson (1972) beschouwen de celmembraam als een relatief vloeibare dubbell laag van lipiden waarin componenten geïmpregneerd zijn die voor een deel in staat zijn zich over het oppervlak van de celmembraam te verplaatsen. Door een aantal onderzoekers wordt verondersteld dat het hormoonreceptorcomplex zich over het oppervlak van de celmembraam verplaatst en zich ten gevolge van deze mobiliteit aan het adenylcyclase kan binden ("collision coupling" theorie; Cuatrecasas 1974). Voor een aantal hormoonreceptoren kon voortdurende mobiliteit over het celmembraamoppervlak inderdaad worden aangetoond (King en Cuatrecasas 1981) terwijl met behulp van lasertechnieken voor o.a. acetylcholinereceptoren (Axelrod e.a. 1976) de gemiddelde snelheid waarmee de receptor zich over het celmembraamoppervlak beweegt zelfs kon worden berekend.

In vitro lijkt aangetoond te zijn dat de mate van mobiliteit van het hormoonreceptorcomplex over de celmembraam een medebepalende factor is voor de mate waarin binding van een hormoon aan zijn receptoren resulteert in adenylcyclaseactivering (Rimon e.a. 1978; King en Cuatrecasas 1981). Volgens Rimon e.a. (1978) is er hierbij geen sprake van een universele eigenschap van hormoonreceptoren en zouden receptoren van een aantal hormonen wel permanent gekoppeld zijn aan adenylcyclase.

Een aantal onderzoekers toonden aan dat de aanwezige concentraties calcium en magnesium eveneens van invloed zijn op de mate waarin het adenylcyclase wordt geactiveerd. Zo vereist zowel de stimulatie van adenylcyclaseactiviteit in geïsoleerde levermembraamfracties onder invloed van glucagon (Pohl e.a. 1971) als de stimulatie van adenylcyclaseactiviteit in membraamfracties van vetcellen (Birnbaumer e.a. 1969) de aanwezigheid van magnesium terwijl voor de laatste reactie ook aangetoond lijkt, dat de aanwezigheid van calcium in het incubaat essentieel is (Birnbaumer en Rodbell 1969). De gestimuleerde adenylcyclaseactiviteit van het eerste model neemt echter weer af bij oplopende magnesiumconcentraties (Pohl e.a. 1971) terwijl ook in het andere model de gestimuleerde adenylcyclaseactiviteit afneemt bij aanwezigheid van hogere concentraties calcium in het incubaat (Pohl e.a. 1971; Birnbaumer e.a. 1969).

Terwijl de hormoonreceptor specifiek één bepaald soort hormoon bindt, kunnen receptoren van verschillende soorten hormonen die zich op dezelfde cel bevinden, hetzelfde adenylcyclase binnen de cel activeren (Cuatrecasas 1974; Rodbell 1980). Zo kan in geïsoleerde vetcellen hetzelfde adenylcyclase door zeven verschillende hormonen geactiveerd worden (Birnbaumer en Rodbell 1969; Rodbell e.a. 1970b). Dit is waarschijnlijk één van de mechanismen waardoor verschillende hormonen eenzelfde biologische response tot gevolg kunnen hebben terwijl het effect van meervoudige maximale receptorstimulatie door diverse hormonen tegelijkertijd niet altijd additief is (Kahn 1976).

Het gevormde cAMP doet dienst als "second messenger" voor het hormoon. Sutherland en Robinson (1966) en Liddle en Hardman (1971) formuleerden een aantal criteria waaraan voldaan moet worden voordat aangenomen kan worden dat voor een bepaald hormoon cAMP als "second messenger" fungeert.

Beïnvloeding van de intracellulaire cAMP concentratie lijkt in een aantal gevallen ook te kunnen verklaren hoe hormonen een antagonistische werking ten opzichte van elkaar kunnen bezitten. Zo remt insuline de door adrenaline geïnduceerde cAMP productie in geïsoleerde vetcellen (Zumstein e.a. 1974) en de door glucagon geïnduceerde cAMP productie in leverweefsel (Jefferson e.a. 1968).

In de literatuur neemt men van meet af aan (Sutherland en Rall 1960; Aurbach e.a. 1969) dat hormonen waarvoor cAMP dienst doet als "second messenger" de hoeveelheid cAMP in de receptorcel verhogen door adenylcyclaseactivering en niet door fosfodiesteraseinhibitie. Van o.a. schildklierhormoon (Marcus 1975, Mandel en Kuhl 1967) en corticosteroïden (Ross e.a. 1977), hormonen waarvan aangenomen wordt dat het hormonale effect tot stand komt zonder gebruik van cAMP als "second messenger" (vide infra) lijkt fosfodiesteraseinhibitie in vitro aangetoond. Mogelijk gaat het hierbij om een mechanisme waardoor ook in vivo deze hormonen in staat zijn de activiteit van polypeptidehormonen te beïnvloeden.

Het gevormde cAMP activeert cAMP-afhankelijke proteïnkinasen door afsplitsing van een inhiberend deel van het enzym (Gill en Garren 1970; Tao e.a. 1970; Erlichman e.a. 1971); deze proteïnkinasen stimuleren in de cel fosforyleringsreacties en beïnvloeden daarmee de activiteit van enzymen en andere eiwitten welke het hormoon-effect bepalen (Greengard 1978; Baxter en Funder 1979; Pollet en Levey 1980). Zo leidt vorming van cAMP in leverweefsel onder invloed van glucagon of epinefrine en in spierweefsel onder invloed van epinefrine via activering van fosforylasekinase tot omzetting van inactief fosforylase b in actief fosforylase a, waardoor de glycogenolyse geactiveerd wordt (Sutherland en Rall 1960; Haynes e.a. 1960).

Van o.a. groeihormoon, insuline, prolactine en de catecholamines (α -adrenergisch) kon tot dusverre niet overtuigend worden aangetoond dat de binding van het hormoon aan de receptor activering van het adenylcyclase tot gevolg heeft. Voor een aantal van deze hormonen zijn de verschillende stappen tussen hormoonreceptorbinding en biologisch effect nog niet geïdentificeerd. Wel lijkt ook in deze gevallen het uiteindelijk biologisch effect tot stand te komen via eiwitfosforylering (Greengard 1978). In een aantal gevallen lijkt cGMP de rol van second messenger te vervullen (Baxter en Funder 1979, Greengard 1978). Calcium lijkt de fosforylering van een aantal eiwitten in de cel te kunnen stimuleren (Krueger e.a. 1977). Van een aantal hormonen is aangetoond dat zij de opname van calcium vanuit het extracellulaire compartiment en verplaatsingen van calcium van het ene celcompartiment naar het andere beïnvloeden. Het lijkt daarom mogelijk dat het biologisch effect van een aantal hormonen (mede) tot stand komt door beïnvloeding van de cellulaire calciumhomeostase (Greengard 1978; Baxter en Funder 1979). Van een aantal hormonen lijkt aangetoond dat de verschillende biologische effecten tot stand komen door gebruik van meerdere van de bovengenoemde processen. Tenslotte bestaan er aanwijzingen dat een aantal biologische effecten van polypeptidehormonen tot stand komen doordat een beperkt deel van de hormoonreceptorcomplexen zich na internalisatie aan celorganellen (o.a. de celkern) binden waardoor biologische processen (RNA en DNA productie, eiwitsynthese) zonder gebruik van een second messenger in gang gezet worden (King en Cuatrecasas 1981).

Het biologisch effect van steroïdhormonen komt op geheel andere wijze tot stand. De receptoren voor steroïdhormonen (inclusief vitamine D en haar metabolieten) bevinden zich intracellulair. Het vrije hormoon penetreert de celmembraam en bindt zich in het cytoplasma aan de receptor. Deze interactie leidt tot een verandering in het hormoonreceptorcomplex welke "activatie" genoemd wordt en resulteert na translocatie in een binding van het hormoonreceptorcomplex met het chromatine in de celkern (Chan en O'Malley 1978; Munck en Foley 1979).

Hierna wordt door transcriptie van DNA in RNA messenger RNA geproduceerd, waardoor na translatie op ribosomen de synthese van het eiwit, nodig voor het biologisch effect, plaatsvindt (Chan en O'Malley 1978), waarschijnlijk eveneens door beïnvloeding van de intracellulaire proteïnkinaaseactiviteit (Greengard 1978). Hoewel vaststaat dat steroïdhormonen in een aantal weefsels de cAMP-concentratie kunnen beïnvloeden (Weiss en Crayton 1970, Rosenfeld en O'Malley 1970) lijkt cAMP geen rol te spelen bij het tot stand komen van het biologisch effect van steroïdhormonen en lijkt deze beïnvloeding langs indirecte weg tot stand te komen (Gorski en Gannon 1976; Thompson en Lippman 1974). Wel zijn steroïdhormonen in staat, de activiteit van cAMP-afhankelijke proteïnkinasen te beïnvloeden hetgeen (Greengard 1978; Lamberts e.a. 1975), naast de reeds genoemde fosfodiesteraseinhibitie, een mogelijke verklaring biedt voor het feit dat een aantal steroïdhormonen synergistisch en/of antagonistisch werken ten opzichte van hormonen waarvan het biologisch effect tot stand komt door adenylcyclaseactivering.

Samenvattend blijkt cAMP voor een aantal polypeptidehormonen te fungeren als schakel in de receptorcel. De mate van activering door het hormoonreceptorcomplex blijkt echter afhankelijk te zijn van een aantal factoren zoals de aanwezigheid van GTP, de GTP-ase activiteit en de intracellulaire calcium en magnesiumconcentratie. Bovendien lijken in vele gevallen andere hormonen in staat, de mate van adenylcyclaseactivering door een bepaald hormoon mede te bepalen.

2.2 De oorsprong en eliminatie van het plasma cAMP

Aanvankelijk werd verondersteld dat celmembranen weinig of niet doorlaatbaar zijn voor cAMP. Zowel in vitro als in vivostudies toonden echter aan dat transport van het intra- naar het extracellulaire compartiment na hormonale stimulatie plaats heeft (Cramer en Lindl 1974), terwijl er voor een aantal biologische systemen aanwijzingen bestaan dat het een actief transportmechanisme betreft (Davoren en Sutherland 1963).

Omdat plasma geen adenylcyclaseactiviteit bevat wordt aangenomen dat het in plasma aangetroffen cAMP geheel van intracellulaire oorsprong is. In vivo onderzoek maakte aannemelijk, dat het onder basale omstandigheden in het plasma aangetroffen cAMP afkomstig is uit o.a. de nieren (Kaminsky e.a. 1970a), de lever (Liljenquist e.a. 1974), longen en darm (Wehman e.a. 1974) en waarschijnlijk verder uit de zeer vele andere weefsels waar cAMP als intracellulaire second messenger dienst doet (Broadus 1977). De cellulaire elementen van het bloed lijken geen bijdrage van betekenis aan het plasma cAMP te leveren (Broadus e.a. 1970a).

De cAMP concentratie in het plasma is vele malen lager dan de intracellulaire concentratie welke nodig is om een biologisch effect tot gevolg te hebben. Karlberg e.a. (1974) stelden vast dat de plasma cAMP concentratie van de door hen onderzochte proefpersonen slechts 1% bedroeg van de concentratie welke aangetroffen werd in van de proefpersonen afkomstig gehomogeniseerd spier- en vetweefsel. Carchman e.a. (1971) berekenden uit hun experimenten met geïsoleerde bijnieren afkomstig van de kat, dat per minuut 1 tot 2% van het intracellulaire cAMP door de celmembraam naar de extracellulaire ruimte penetreert.

Broadus e.a. (1970a) berekenden de plasmaproductie rate (productie in de cAMP pool welke uitwisselbaar is met plasma) bij gezonden op 9-17,4 nmol/min.

Bij infusiestudies met cAMP^{3H}, uitgevoerd bij gezonde menselijke proefpersonen, blijkt de verdelingsruimte van cAMP^{3H} het extracellulaire volume met 50% te overtreffen (Broadus e.a. 1970a) zodat er niet alleen transport lijkt te bestaan van het intra- naar het extracellulaire compartiment doch eveneens in omgekeerde richting. In overeenstemming hiermee bleken o.a. hepatocyten (Levine e.a. 1969; Strange en Percy-Robb 1975), nierweefsel (Coulson en Bowman 1974) en hartspierweefsel (Rossberg e.a. 1975) in vitro in staat cAMP uit het incubatie of perfusiemedium op te nemen.

Broadus e.a. (1970a) bestudeerden de eliminatie van het plasma CAMP in vivo bij een aantal gezonde vrijwilligers. De halfwaardetijd van geïnfundeerd CAMP^3H bedroeg bij hun proefpersonen gemiddeld 30 minuten. De plasma-clearancerate (het volume plasma dat per tijdseenheid volledig van CAMP^3H ontdaan wordt) bleek vijf maal zo hoog als de renale clearancerate (het volume plasma dat per tijdseenheid door renale klaring volledig van CAMP^3H ontdaan wordt) waaruit Broadus e.a. concludeerden dat het plasma CAMP bij gezonden voor ongeveer 80% extrarenaal geëlimineerd wordt. Deze conclusie is in overeenstemming met eerdere bevindingen bij de rat (Chase en Aurbach 1967).

Extrarenale eliminatie van het extracellulaire CAMP lijkt grotendeels plaats te vinden door intracellulaire enzymatische degradatie na passage van de celmembraam (o.a. Levine e.a. 1969). Een aantal onderzoekers kwamen op grond van in vitro studies tot de conclusie dat degradatie van CAMP door in of aan de buitenzijde van de celmembraam aanwezig fosfodiesterase wellicht eveneens een rol van betekenis speelt (Rossberg e.a. 1975). De langzame in vitro hydrolyse van plasma CAMP suggereert dat de in het plasma aanwezige vrije fosfodiesteraseactiviteit (Broadus e.a. 1971, Asano en Hidaka 1975) een relatief kleine rol speelt bij de eliminatie van het extracellulaire CAMP (Hemington e.a. 1973). Een aantal onderzoekers veronderstelden dat een aanzienlijk deel van het extracellulaire CAMP door biliaire excretie uit het lichaam verwijderd wordt. Hoewel de lever waarschijnlijk een belangrijke rol speelt bij de eliminatie van het extracellulaire CAMP (Blonde e.a. 1974) lijkt het in dit geval voornamelijk om intracellulaire degradatie te gaan (Levine e.a. 1969); biliaire excretie lijkt kwantitatief gezien een mechanisme van ondergeschikt belang (Strange en Percy-Robb 1975).

De bovenstaande gegevens duiden erop, dat het extracellulaire CAMP beschouwd moet worden als een deel van een pool in dynamische steady state. Er bestaat een relatief groot distributievolume met onder basale omstandigheden een hoge turnover door productie en afbraak in talloze weefsels.

2.3 De oorsprong van het cAMP in de urine

Broadus e.a. (1970a) zagen dat de renale klaring van zowel lage als zeer hoge doseringen van bij gezonden geïnfundeerd cAMP^3H steeds in dezelfde orde van grootte lag als de renale klaring van geïnfundeerd inuline; zij concludeerden dat uitscheiding van het plasma cAMP in de urine uitsluitend plaatsvindt via glomerulaire filtratie.

De renale klaring van het endogene plasma cAMP blijkt bij gezonden echter 18-52% hoger te zijn dan de klaring van geïnfundeerd inuline of geïnfundeerd cAMP^3H (Broadus e.a. 1970a, Kaminsky e.a. 1970a), zodat 48-82% van het in de urine gevonden cAMP afkomstig moet zijn van glomerulaire filtratie ("gefiltreerd cAMP") terwijl het overige deel door het nierparenchym zelf aan de urine wordt toegevoerd ("nefrogeen cAMP").

Het nefrogeen geproduceerde cAMP bleek voor het overgrote deel afkomstig uit de corticale tubuluscellen, waar intracellulair cAMP geproduceerd wordt onder invloed van PTH-gevoelig adenylcyclase (zie 3.1). Er bestaat nog geen overeenstemming over de vraag op welke wijze het in de tubuluscel gevormde cAMP de celmembraam passeert (Broadus 1981).

2.4 Parametrische expressiewijze van de cAMP-excretie in de urine

De cAMP-excretie staat op twee wijzen in verband met de nierfunctie:

- a. de nefrogene cAMP-excretie (uitgedrukt in nmol/min) toont binnen een bepaalde populatie steeds een lineair verband met de GFR (in ml/min) (Broadus e.a. 1977) zolang de GFR hoger is dan 20 ml/min. Het bestaan van deze relatie is niet onverwacht omdat de GFR een maat is voor het aantal functionerende, adenylcyclase bevattende nefronen. Indien de nefrogene cAMP excretie in nmol/min de totale hoeveelheid geactiveerd renaal adenylcyclase karakteriseert, is het quotiënt $\text{cAMP (nmol/min)} : \text{GFR (ml/min)}$ te beschouwen als een maat voor de hoeveelheid geactiveerd adenylcyclase per eenheid functionerend nierweefsel.

b. de filtered load (nmol/min), berekend als het product van de plasma cAMP-concentratie (nmol/ml) en de GFR (ml/min) vertoont, zolang de GFR hoger is dan 20 ml/min, binnen een bepaalde populatie eveneens een vrijwel lineair verband met de GFR (Broadus e.a. 1977). Dit is te verwachten uit de eerder genoemde verhouding tussen extrarenale en renale eliminatie (4 : 1) waardoor de plasma cAMP concentratie betrekkelijk onafhankelijk is van de GFR.

Uit het bovenstaande volgt, dat, in vergelijkend onderzoek waarbij de totale en/of nefrogene cAMP excretie van verschillende individuen vergeleken wordt een uitdrukkingswijze van de cAMP excretie waarbij gecorrigeerd wordt voor de nierfunctie, theoretisch de meest juiste is. De totale cAMP excretie kan dan gekarakteriseerd worden als:

$$\frac{U_{\text{cAMP}} \times V}{Kl_{\text{Kr}}} \times 100 \text{ (nmol/100 cc GF)}$$

en de nefrogene cAMP excretie als:

$$\frac{U_{\text{cAMP}} \times V - P_{\text{cAMP}} \times Kl_{\text{Kr}}}{Kl_{\text{Kr}}} \times 100 \text{ (nmol/100 cc GF)}$$

(U_{cAMP} en P_{cAMP} = cAMP-concentratie in nmol/ml in urine en plasma;

V = urineproductie in ml/min;

Kl_{Kr} = kreatinineklaring in ml/min).

In de oudere literatuur werd de cAMP excretie veelal uitgedrukt in nmol per tijdseenheid. De uitdrukking van de cAMP excretie in nmol/g kreatinine werd gebruikt toen bleek dat met deze wijze van uitdrukken de cAMP bepaling in de urine een beter onderscheid mogelijk maakte tussen gezonden en patienten met primaire hyperparathyreoidie; verder werd met deze uitdrukkingswijze de cAMP excretie gedeeltelijk gecorrigeerd op fouten in het verzamelen van de urine. Daarentegen hangt de uitkomst van de bepaling dan weer mede af van de functionerende spiermassa van de onderzochte personen en binnen een bepaalde populatie blijkt steeds een aanzienlijke spreiding aanwezig te zijn (Schmidt-Gayk e.a. 1977; Broadus e.a. 1977).

In de moderne literatuur wordt de cAMP excretie meestal uitgedrukt in nmol/100 cc GF.

2.5 Variabiliteit van de cAMP excretie in de urine: reproduceerbaarheid en dag-nachtritme

De cAMP excretie in de urine blijkt, indien van dag tot dag bepaald, redelijk constant te zijn; de in de literatuur aangegeven variaties zijn in het algemeen niet groter dan 10, in enkele gevallen 20% (Holmes e.a.1974; Taylor e.a.1970; Murad en Pak 1972). Wel stelden Taylor e.a. (1970) vast dat de cAMP excretie (uitgedrukt in nmol/24 uur) gedurende een menstruele cyclus vervolgd bij drie menopausale vrouwen, steeds een kortdurende doch aanzienlijke stijging toonde in de dagen rond de ovulatie.

Een aantal onderzoekers vonden zowel bij transversaal (Holmes e.a. 1974; Sagel e.a. 1973) als longitudinaal (Murad en Pak 1972; Kopp e.a. 1974) onderzoek aanwijzingen voor het bestaan van een dag-nachtritme in de cAMP excretie. Murad en Pak (1972) en Murad (1973) stelden vast dat ieder individu een eigen, tijdens langdurige follow-up consistent dag- en nachtritme in de cAMP excretie vertoont. De maximale cAMP excretie (in nmol/4 uur of in nmol/g kreatinine) bleek bij een meerderheid der proefpersonen steeds in de middag plaats te vinden terwijl een aantal proefpersonen steeds een maximale cAMP excretie tijdens de ochtend of avonduren vertoonden; de minimale excretie vond ongeveer 12 uur later plaats en bedroeg volgens deze auteurs in het algemeen 60-70% van de maximale waarde. Bij geen van de geciteerde onderzoeken werd echter gebruik gemaakt van de theoretisch meest juiste expressiewijze voor de cAMP excretie in de urine (nmol/100 cc GF) terwijl een aantal onderzoekers de beschreven waarnemingen in het geheel niet konden bevestigen (Shaw e.a. 1977).

Holmes e.a. (1974) vonden aanwijzingen dat de plasma cAMP concentratie ook aan een dag-nachtritme onderhevig is.

Vooralsnog lijkt het ons wenselijk vooral bij follow-up onderzoek van proefpersonen gebruik te maken van urineporties die steeds op dezelfde uren van de dag verzameld werden.

3. DE INVLOED VAN ENKELE HORMONALE FACTOREN OP DE PLASMA cAMP CONCENTRATIE EN DE cAMP EXCRETIE IN DE URINE

3.1 Bijschildklierhormoon

PTH stimuleert de adenylcyclaseactiviteit en cAMP accumulatie in gehomogeniseerd botweefsel (Chase e.a. 1969a; 1969b; Chase en Aurbach 1970). Dibutyryl cAMP heeft dezelfde metabole en histologische effecten op in weefselcultuur gebracht botweefsel als PTH (Vaes 1968) en heeft, toegediend bij de rat dezelfde effecten op de serumcalcium en fosfaatconcentratie als PTH (Rasmussen e.a. 1968; Wells en Lloyd 1969). Alle genoemde auteurs concludeerden dat cAMP dienst doet als second messenger ten aanzien van de effecten van PTH op botweefsel. Peck (1979) meent echter dat het sluitend bewijs dat cAMP dienst doet als exclusieve second messenger voor PTH op botweefsel nog niet geleverd is en dat calcium en cGMP mogelijk eveneens een rol van betekenis spelen.

PTH gevoelig adenylcyclase werd in geïsoleerde rattenieren geïdentificeerd en bleek voornamelijk gelokaliseerd in de niercortex (Chase en Aurbach 1968; Melson e.a. 1970) en wel specifiek in de cellen langs de proximale tubulus (Amiel e.a. 1981). Tal van in vitro en in vivo experimenten maakten aannemelijk dat cAMP ten aanzien van een aantal effecten van PTH op de nier dienst doet als second messenger (o.a. Rasmussen ea 1968; Chase en Aurbach 1967); algemeen wordt aangenomen dat de PTH afhankelijke fosfaatterugresorptie in de niertubulus tot stand komt door activering van het renale adenylcyclasesysteem; over een in dit opzicht exclusieve rol van cAMP lijkt meer overeenstemming te bestaan dan t.a.v. de effecten van PTH op botweefsel (Amiel e.a. 1981). Het is nog niet duidelijk of cAMP een exclusieve rol speelt bij de activering van het 1 hydroxylase o.i.v. PTH (Broadus 1981).

Zowel bij de rat (Chase en Aurbach 1967) als bij de mens (Chase en Aurbach 1967; Kaminsky e.a. 1970a) treedt na infundering van PTH een zeer sterke stijging van de cAMP excretie van de urine op. De excretiesnelheid van bij de rat geïnfundeerd 3'5' cAMP¹⁴C neemt echter niet toe tijdens PTH infusie (Chase en Aurbach 1967) terwijl bij de mens tijdens PTH infusie de cAMP/inuline klaringsratio zeer sterk stijgt (zie 2.3).

De toename van de cAMP excretie lijkt dan ook geen gevolg te zijn van toegenomen glomerulaire filtratie doch van een toegenomen nefrogene cAMP productie als gevolg van gestimuleerd tubulusadenylcyclase.

Een aantal onderzoekers hebben aannemelijk gemaakt dat bij gezonden ook onder basale omstandigheden veruit het grootste deel van het nefrogene cAMP geproduceerd wordt onder invloed van PTH gevoelig renaal adenylcyclase. Tijdens bijschildkliersuppressie door infusie van grote hoeveelheden calcium zagen Kaminsky e.a. (1970a) de totale cAMP excretie bij gezonden met 20-50% afnemen; Broadus e.a. (1978) vonden met eenzelfde proefopstelling een afname van de nefrogene cAMP productie van gemiddeld 81%. Toch is het de vraag of men uit deze waarnemingen mag concluderen dat onder basale omstandigheden bij gezonden eenzelfde percentage van de nefrogene cAMP excretie direct van het circulerend PTH afhankelijk is. Mayer e.a. (1976) maakten aannemelijk, dat het niet mogelijk is de bijschildklieractiviteit door een geïnduceerde hypercalciaemie volledig te onderdrukken. Dit duidt erop dat mogelijk een nog groter percentage van de nefrogene cAMP excretie PTH-afhankelijk is; bij de rat lijkt door middel van een andere proefopstelling aangetoond, dat de nefrogene cAMP productie 100% PTH afhankelijk is (Butlen en Jard 1972). Anderzijds duiden in vitro en in vivo studies bij de rat en het konijn (Beck ea 1974; Streeto 1969) op de mogelijkheid dat calcium langs directe weg (dus niet via PTH suppressie) in staat is de renale adenylcyclaseactiviteit te remmen. Dit zou kunnen betekenen dat bij calciuminfusie de daling van de nefrogene cAMP excretie niet uitsluitend het effect hoeft te zijn van PTH suppressie.

Dat evenwel een zeer aanzienlijk deel van het nefrogene cAMP geproduceerd wordt onder invloed van PTH-gevoelig renaal adenylcyclase blijkt mede uit de ten opzicht van gezonden lage waarden voor de totale (Broadus e.a. 1977; Murad en Pak 1972; Taylor e.a. 1970) en nefrogene cAMP excretie welke gevonden wordt bij patiënten met hypoparathyreodie: de nefrogene cAMP excretie van 16 door Broadus (1981) onderzochte patiënten was gemiddeld 80% lager dan bij gezonden.

Infusie van PTH bij gezonden resulteert niet alleen in een toename van de nefrogene cAMP excretie doch ook in een stijging van het plasma cAMP. Deze is echter relatief klein: Kaminsky e.a. (1970a) zagen na infusie van 40 mU per kg. per minuut bovine PTH bij gezonden de cAMP excretie met 430% toenemen terwijl het plasma cAMP met 40% steeg. De stijging van de plasma cAMP concentratie trad echter niet op bij patiënten bij wie beide nieren verwijderd waren zelfs al werd gebruik gemaakt van aanzienlijk hogere PTH-doseringen; kennelijk vindt er tijdens PTH infusie niet alleen transport van cAMP plaats vanuit de tubuluscel naar de urine, doch eveneens vanuit de tubuluscel naar de extracellulaire vloeistof. Tomlinson e.a. (1975) namen hetzelfde waar en toonden bovendien aan dat de cAMP concentratie in de vena renalis na PTH infusie een snellere en hogere piek vertoont vergeleken met de concentratie in een perifere vene.

Tijdens infusie van grote hoeveelheden calcium bij gezonden daalt de plasma cAMP concentratie met gemiddeld 10% (Kaminsky e.a. 1970a) zodat waarschijnlijk bij gezonden onder basale omstandigheden eenzelfde percentage van het in het plasma gevonden cAMP afkomstig is uit cellen met een op PTH reagerend adenylcyclase.

De cAMP bepaling in de urine deed zijn intrede in de kliniek toen bleek dat patiënten met pseudohypoparathyreoidie een verminderde of afwezige stijging van de cAMP excretie in de urine toonden na toediening van PTH (Chase e.a. 1969b).

Omdat er een direct verband bestaat tussen bijschildklieractiviteit en nefrogene cAMP excretie, leek de bepaling van de cAMP uitscheiding van waarde bij de diagnostiek van de primaire hyperparathyreoidie (PHP).

Zoals op theoretische gronden te verwachten is (zie 2.4) bleek een juiste parametrische expressiewijze hierbij van essentieel belang. Uitgedrukt in nmol/24 uur bestaat er een aanzienlijke overlap tussen de waarden bij gezonden en die bij patiënten met PHP (Debacker e.a. 1974, Shaw e.a. 1977). Een aantal onderzoekers vonden in het geheel geen verschil tussen beide groepen (Neelon e.a. 1973; Dohan e.a. 1972).

Dit kan een gevolg zijn van de grote spreiding in beide groepen en van de lagere GFR welke bij groepen patiënten met PHP doorgaans gevonden wordt (Schmidt-Gayk e.a. 1977, Broadus e.a. 1977). Uitgedrukt in $\mu\text{mol/g}$ kreatinine discrimineert de cAMP bepaling in de urine aanzienlijk beter tussen patiënten met PHP en gezonden: de cAMP excretie wordt bij gebruik van deze expressiewijze bij 60-80% van de patiënten met PHP te hoog gevonden (Murad en Pak 1972; Shaw e.a. 1977; Broadus e.a. 1977) doch ook met deze expressiewijze wordt niet op adequate manier gecorrigeerd voor de nierfunctie. Uitgedrukt in $\text{nmol}/100\text{ cc GF}$ is de nefrogene cAMP excretie bij 90-95% van de patiënten met PHP verhoogd (Broadus e.a. 1977; Schmidt-Gayk e.a. 1977), hetgeen illustreert dat deze expressiewijze zowel om theoretische als praktische redenen de voorkeur verdient.

Hoewel tijdens infusie van grote hoeveelheden PTH bij gezonden het plasma cAMP in relatief geringe mate stijgt (Kaminsky e.a. 1970a) is er geen duidelijk verschil tussen de gemiddelde plasma cAMP concentratie bij gezonde proefpersonen en patiënten met PHP: Broadus (1979) vond bij 100 gezonden een gemiddelde plasma cAMP concentratie van $1,61\text{ nmol}/100\text{cc}$ en bij 115 patiënten een gemiddelde plasmaconcentratie van $1,59\text{ nmol}/100\text{cc}$. Omdat de plasma cAMP concentratie binnen de verschillende groepen een relatief kleine spreiding vertoont, voldoet bepaling van de totale cAMP excretie bij de diagnostiek van de PHP evengoed als de moeizamere bepaling van de nefrogene cAMP excretie.

De bepaling van de cAMP excretie in de urine, uitgedrukt in $\text{nmol}/100\text{cc GF}$, is een gevoelig diagnostisch hulpmiddel gebleken bij de diagnostiek van de PHP.

Bij gebruik van dit hulpmiddel dient men zich echter wel te realiseren dat een aantal andere aandoeningen, die aanleiding kunnen geven tot een hypercalcaemie, zoals maligniteiten (hoofdstuk 11) eveneens gepaard kunnen gaan met een verhoogde excretie van cAMP in de urine.

Spiegel e.a. (1980) menen dat per operatieve bepaling van de cAMP excretie van nut kan zijn tijdens halsklierexploratie in verband met PHP teneinde vast te stellen of (voldoende) pathologisch weefsel is verwijderd.

Een aantal auteurs (Pak e.a. 1975; Broadus ea 1981) menen dat de bepaling van de cAMP excretie in de urine voor en na orale belasting met calcium een waardevol hulpmiddel is bij de differentiaaldiagnostiek tussen de renale en de absorptieve "idiopatische" hypercalciurie.

3.2 β -adrenoceptoren

Adrenaline was een van de eerste hormonen waarvan aangetoond kon worden dat het in tal van zijn eindorganen de adenylcyclaseactiviteit stimuleert (Sutherland en Rall 1960). Spoedig bleek dat cAMP de rol van second messenger vervult bij het tot stand komen van een aantal van de metabole effecten van catecholamines op de lever (Haynes e.a. 1960), hartspier (Murad e.a. 1962) en vetweefsel (Sutherland e.a. 1965). cAMP lijkt echter uitsluitend een rol te spelen bij het tot stand komen van de β -adrenerge effecten van de catecholamines terwijl door een aantal auteurs aangenomen wordt dat ten aanzien van de α -adrenerge effecten cGMP de rol van second messenger vervult (Ball ea 1972; Greengard 1978). Hiermee in overeenstemming resulteren infusies van epinefrine en norepinefrine in combinatie met een α -antagonist bij gezonden in een stijging van de cAMP concentratie in het plasma terwijl de plasma cGMP concentratie niet verandert; omgekeerd veroorzaakt infusie van catecholamines in combinatie met een β -antagonist een stijging van het plasma cGMP zonder een verandering in de plasma cAMP concentratie (Ball e.a. 1972).

Hoewel niet zeker is of fysiologische variaties in de catecholamine-concentraties in het bloed de plasma cAMP concentratie mede bepalen, bestaan hiervoor wel aanwijzingen.

Farmacologische stimulatie van de endogene catecholaminesecretie in zowel zenuwuiteinden als bijniermerg resulteert bij de rat in een stijging van de plasma cAMP concentratie (Kunitada e.a. 1978); de plasma cAMP concentratie is bij gezonde menselijke proefpersonen in staande houding hoger dan in liggende houding (Hamet e.a. 1974; Kuchel e.a. 1975), stijgt tijdens hypoglycaemie (Brodows e.a. 1976) en tijdens stress situaties zoals inspanning (Lin 1978) en een myocardinfarct (Strange e.a. 1974). Voor o.a. de hypoglycaemie werd bovendien aangetoond dat de stijging van het plasma cAMP niet optreedt tijdens β -blokkade.

Toediening van een β -antagonist bij gezonden beïnvloedt in het acute experiment de plasma cAMP concentratie niet (Ball e.a. 1972; Karlberg e.a. 1974) zodat onder basale omstandigheden de bijdrage van catecholamineactiviteit aan de plasma cAMP concentratie niet groot lijkt.

Wat betreft de invloed van de catecholamines op de cAMP excretie in de urine zou men verwachten dat stimulatie van de β -receptoren via een toename van de filtered load resulteert in een stijging van de cAMP excretie in de urine. Verschillende onderzoekers namen echter waar dat tijdens selectieve farmacologische stimulatie van de receptoren bij gezonde proefpersonen de plasma cAMP concentratie stijgt, doch de waargenomen stijging van de cAMP excretie bleek steeds aanzienlijk minder te zijn dan men op grond van de toename van de filtered load (plasma cAMP concentratie \times inulineclearance) zou verwachten. Het lijkt dus alsof tijdens adrenerge stimulatie de nefrogene cAMP excretie afneemt (Ball e.a. 1972; Kaminsky e.a. 1970b). Deze waarnemingen lijken op het eerste gezicht niet goed in overeenstemming te zijn met de resultaten van in vitro onderzoek, waarbij aangetoond kon worden dat de adenylcyclaseactiviteit in geïsoleerde rattenieren (Melson e.a. 1970) en de cAMP concentratie in geïsoleerde hondenieren (Beck e.a. 1972) (hoewel in geringe mate) toeneemt tijdens stimulatie met β -agonisten; bovendien zou men eerder verwachten dat toediening van β -agonisten in het acute experiment de nefrogene cAMP excretie verhoogt via adrenerge stimulatie van de bijnieren (hoofdstuk 10). Guder en Rupprecht (1975) toonden aan dat norepinefrine in geïsoleerde ratteniertubuli de vorming van cAMP onder invloed van PTH remt. De resultaten van hun werk zouden echter maar voor een deel een verklaring kunnen bieden voor de in vivo waarnemingen bij de mens, omdat de remmende werking van norepinefrine geheel te niet gedaan bleek te kunnen worden door toevoeging van een α -antagonist, zodat deze remming een gevolg zou moeten zijn van stimulatie van α -receptoren, terwijl de effecten van β -agonisten onbelemmerd zouden moeten blijven.

De oorzaak van de discrepantie tussen de veranderingen in de plasma cAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine tijdens adrenerge stimulatie blijft dan ook vooralsnog onopgehelderd.

3.3 Antidiuretisch hormoon

Orloff en Handler (1962) toonden als eersten aan, dat cAMP in een aantal experimentele in vitro systemen dezelfde effecten op water en natriumtransport heeft als vasopressine; zij postuleerden als eersten dat ADH zijn werking op de nier uitoefent via stimulatie van het renale adenylcyclasesysteem. Later werd duidelijk, dat het adenylcyclasesysteem een centrale rol speelt bij het tot stand komen van het antidiuretisch effect van ADH (Doussa 1973). Brown e.a. (1963) identificeerden voor vasopressine-gevoelig adenylcyclase in nierweefsel; terwijl PTH vooral adenylcyclase gelokaliseerd in de niercortex activeert, bleek het voor vasopressine-gevoelige adenylcyclase vooral gelokaliseerd in de medulla (Chase en Aurbach 1968; Melson e.a. 1970), in de cellen rond de distale verzamelbuisjes (Imbert e.a. 1975).

Een aantal onderzoekers zagen na toediening van farmacologische hoeveelheden vasopressine bij de rat (Chase en Aurbach 1967) en de mens (Taylor e.a. 1970; Fichman en Brooker 1972; Takahasi e.a. 1966) de cAMP excretie in de urine toenemen. Kaminsky e.a. (1970b) zagen bij 3 gezonden de cAMP excretie niet veranderen na vasopressineinfusie doch de door hen gehanteerde vasopressine-dosering bedroeg de helft (5mU/min) van die welke door de eerder genoemde auteurs geïnfundeerd werd.

De vraag of in afwezigheid van ADH (diabetes insipidus) de cAMP excretie lager is dan normaal, wordt in de literatuur controversieel beantwoord (Fichman en Brooker 1972 vs Raij e.a. 1974).

Fysiologische variaties in de ADH secretie lijken bij gezonden de cAMP excretie echter niet in belangrijke mate te beïnvloeden. Hardman e.a. (1969) en Butlen en Jard (1972) stelden vast dat bij de rat de cAMP excretie in de urine onafhankelijk is van de per periode geproduceerde hoeveelheid urine. Takahasi e.a. (1966) zagen bij hun in de literatuur frequent geciteerde studie de cAMP excretie tijdens orale vochtbelasting afnemen doch hun waarneming betrof slechts één proefpersoon.

Owen en Moffat (1973), Murad (1973) en Broadus (1977) vonden bij onderzoek van gezonden geen duidelijk verband tussen de cAMP excretie enerzijds en de hydratietoestand waarin de proefpersonen onderzocht werden en/of de urineflow anderzijds.

Waarom ADH in tegenstelling tot PTH de nefrogene cAMP excretie (vrijwel) niet beïnvloedt is niet duidelijk. Wellicht speelt een relatieve impermeabiliteit van de cellen van het distale nefron een rol (Broadus 1976, 1981).

3.4 Andere hormonale invloeden

Glucagon was één van de eerste hormonen waarvan aannemelijk gemaakt kon worden dat het zijn werking op een aantal van de eindorganen uitoefent via activatie van het adenylylcyclasesysteem (Sutherland en Rall 1957; Haynes e.a. 1960; Sutherland en Rall 1960). Infusie van dit hormoon resulteert bij zowel de rat (Hardman e.a. 1969) als de mens (Broadus e.a. 1970b; Taylor e.a. 1970) in een sterke stijging van zowel de plasma cAMP concentratie als de cAMP excretie. De nefrogene cAMP excretie verandert tijdens glucagoninfusie niet, zodat de stijging van de cAMP excretie uitsluitend een gevolg moet zijn van een toegenomen filtered load (Broadus e.a. 1970b; Kaminsky e.a. 1970b). De sterke stijging van de plasma cAMP concentratie tijdens glucagoninfusie lijkt een gevolg te zijn van het vrijkomen van cAMP uit de lever (Broadus e.a. 1970; Liljenquist e.a. 1974). Fysiologische variaties in de plasmaglucagonconcentratie beïnvloeden de plasma cAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine echter niet duidelijk. Zo verandert de plasma cAMP concentratie bij zowel het proefdier als de mens tijdens vasten niet (Turinsky 1973; Turpin e.a. 1978).

Gezien de duidelijke effecten van PTH op de cAMP excretie kan men zich afvragen welke de invloed hierop is van een tweede bij de calciumhomeostase betrokken hormoon, het calcitonine. Hoewel dit hormoon de adenylylcyclaseactiviteit in gehomogeniseerd rattenier- en botweefsel activeert (Murad e.a. 1970; Heersche e.a. 1974; Chase en Aurbach 1970; Marx e.a. 1972; Melson e.a. 1970) lijken zowel zalm, bovine als humaan calcitonine niet in staat humaan renaal adenylylcyclase te activeren (Marx en Aurbach 1976).

Mede om deze reden lijkt dan ook niet bewezen, dat cAMP bij de mens dienst doet als second messenger voor alle metabole effecten van calcitonine (Austin en Heath 1981). Kaminsky e.a. (1970b) en Adachi e.a. (1974) vonden bij hun proefpersonen een stijging van de cAMP excretie na calcitoninetoediening welke echter uitsluitend een gevolg was van een toename van de filtered load via een verhoging van de plasma cAMP concentratie. Anderen konden deze waarnemingen echter niet bevestigen (Barnett e.a. 1975; Bijvoet e.a. 1971). Voorzover calcitonine enig effect heeft op de plasma cAMP concentratie of de cAMP excretie, lijkt dit vele malen zwakker dan dat van PTH.

Receptoren voor schildklierhormoon lijken (vrijwel) uitsluitend in de celkern gelokaliseerd; na binding van het hormoon aan deze nucleoreceptoren vindt productie van messenger RNA plaats, waardoor de synthese van eiwitten welke het biologisch effect bepalen, op gang komt (Baxter en Funder 1979). cAMP lijkt bij dit proces geen rol te spelen. Verschillende onderzoekers vonden echter bij patiënten met hyperthyreoidie een verhoogde en bij patiënten met hypothyreoidie een verlaagde plasma cAMP concentratie (Karlberg e.a. 1974; Lin 1979; Nilson e.a. 1980). Nilson e.a. (1980) en Karlberg e.a. (1974) namen waar dat de plasma cAMP concentratie bij patiënten met hyperthyreoidie wel doch bij gezonden niet daalde na propranolol toediening en schreven de verhoogde plasma cAMP concentratie bij hyperthyreoidie toe aan een verhoogde adrenerge gevoeligheid. Het bestaan van een verhoogde adrenerge prikkeling en/of gevoeligheid bij hyperthyreoidie wordt echter door een aantal auteurs aangevochten (Verhoeven 1978).

In vitro lijken triiodothyronine en thyroxine in een aantal organen in staat adenylcyclase te activeren (Levey en Epstein 1969) en fosfodiesterase te inhiberen (Mandel en Kuhl 1967; Marcus 1975); deze effecten traden echter pas op bij hormoonconcentraties die vele malen hoger waren dan in vivo ooit worden aangetroffen terwijl het vermogen van de verschillende schildklierhormoon (derivaten) om deze effecten teweeg te brengen vaak niet correspondeerde met de relatieve biologische activiteit.

Campbell en Kane-Maguire (1973) namen waar dat de stijging van de intracellulaire cAMP concentratie in rattehepatocyten o.i.v. glucagon groter was indien schildklierhormoon aan het incutiemedium toegevoegd. Hiermee in overeenstemming stelden Güttler e.a. (1974, 1975) en Elkeles e.a. (1975) vast dat de toename van de plasma cAMP concentratie tijdens epinefrine- of glucagon infusie en de toename van de cAMP excretie tijdens PTH infusie bij patiënten met hyperthyreoidie groter en bij patiënten met hypothyreoidie kleiner was dan bij gezonden. Deze gegevens wijzen erop dat schildklierhormoon een modulerend effect zou kunnen hebben op de responsiviteit van verschillende receptorcellen.

De literatuurgegevens over de cAMP excretie bij hypoen hyperthyreoidie zijn verwarrend. Bij hypothyreoidie werd de cAMP excretie, uitgedrukt in nmol/24 uur, door een aantal auteurs verlaagd gevonden (Tucci en Kopp 1976; Carter en Heath 1974); uitgedrukt in nmol/g kreatinine bleek de cAMP excretie echter normaal (Tucci en Kopp 1976; Carter en Heath 1974). Bij hyperthyreoidie is de cAMP excretie, uitgedrukt in nmol/g kreatinine, verhoogd (Nilson e.a. 1980; Rosen 1972; Tucci en Kopp 1976; Lin e.a. 1973; Carter en Heath 1977). Hierbij dient men zich echter te realiseren dat bij hyperthyreoidie veranderingen in het kreatininemetabolisme optreden welke resulteren in een verlaagde kreatinineexcretie t.o.v. normalen (Kuhlbach 1957) zodat het hier om een schijnbare verhoging van de cAMP excretie zou kunnen gaan; dit onderstreept de reeds in 2.4 genoemde bezwaren tegen het gebruik van deze expressiewijze. Literatuurgegevens over de cAMP excretie, uitgedrukt in nmol/100cc GF, bij schildklierfunctiestoornissen zijn niet beschikbaar.

4. ENKELE TECHNISCHE ASPECTEN BETREFFENDE DE cAMP-BEPALING IN BLOED EN URINE; DE INVLOED VAN ZWARE LICHAAMELIJKE ARBEID EN VENEUZE STUWING.

4.1 De cAMP bepaling in bloed en urine

De cAMP bepaling in bloed en urine werd door ons steeds uitgevoerd op de wijze, beschreven door Tovey e.a. (1974) met gebruik van een commerciële kit van het Radiochemical Center (Amersham). Het betreft hier een competitieve eiwitbindingsmethode waarbij gebruik gemaakt wordt van een bindingseiwit bereid uit bovine skeletspier. De interferentie met niet-specifieke (ionen, eiwitten) en specifieke (andere nucleotiden) factoren welke i.v.m. de lage cAMP concentratie bij de plasmabepaling een potentiële probleem vormt is met deze assay minimaal doordat gebruik gemaakt wordt van een sterk gezuiverd bindingseiwit met hoge affiniteit en specificiteit voor cAMP, door toepassing van een optimale scheidingstechniek van vrij en gebonden cAMP m.b.v. norit en door gebruik van een incubatiemedium dat EDTA bevat teneinde de interferentie met bivalente metaalionen tot een minimum te beperken. Bovendien wordt door gebruik van bovine serum albumine en een optimale pH het bindingseiwit zoveel mogelijk geactiveerd waardoor potentiële interferentie met eiwitten sterk beperkt wordt. Deze maatregelen tesamen maken een directe bepaling van cAMP in plasma en urine mogelijk zonder dat gebruik behoeft te worden gemaakt van blankocorrecties met cAMP-vrij plasma of moeizame extractieprocedures (Tovey e.a. 1974).

4.2 De verzorging van urinemonsters

4.2.1 Inleiding

Door een aantal laboratoria wordt geadviseerd HCl aan de urinemonsters toe te voegen teneinde afbraak of toevoeging van cAMP door bacteriële groei te voorkomen. Het belang van deze factor bij de monsterverzorging werd onderzocht. Tevens werd onderzoek verricht naar de stabiliteit van het cAMP in de urine bij verschillende temperaturen.

4.2.2 Proefopstelling

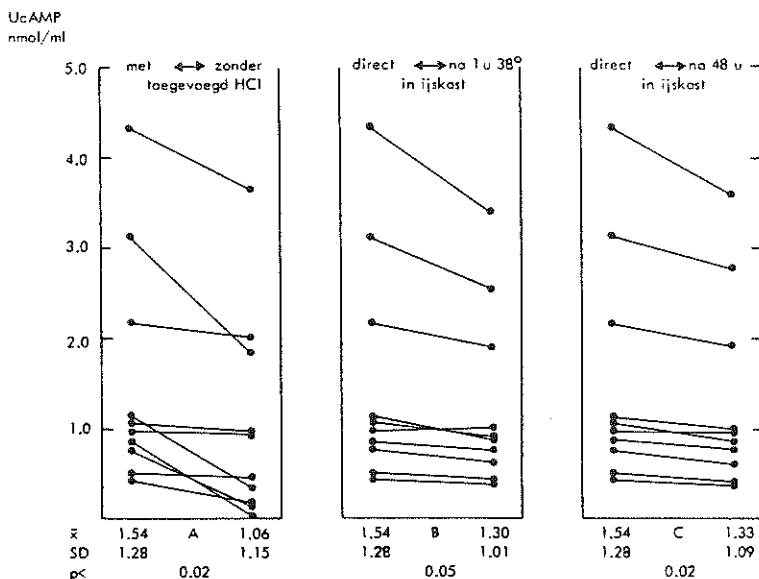
Tien urinemonsters werden direct na het uiturineren in ieder vier porties verdeeld. Aan de eerste, derde en vierde portie werd steeds terstond 12 N HCl (0,5 cc per portie van 1 uurs diurese) toegevoegd. De pH van deze monsters bleek hierna steeds lager dan 3. Aan de tweede portie werd geen zuur toegevoegd. Direct na het verzamelen werden de eerste en de tweede portie in een ijskast (+4° C) gezet. De derde portie werd eerst gedurende 60 minuten in een waterbad (38° C) geplaatst en hierna bij de eerste twee porties gevoegd. Het eerste, tweede en derde portie urine werden gelijktijdig, binnen 20 uur, bij -20° opgeslagen. De vierde portie urine werd gedurende 48 uur bij kamertemperatuur bewaard en vervolgens bij -20° opgeslagen. Enkele dagen tot weken later werden gelijktijdig de concentraties cAMP in de verschillende porties bepaald.

Teneinde na te gaan of cAMP in aangezuurde urine, bij -20° opgeslagen, een stabiele concentratie vertoont, werden twee urinemonsters gedurende tien maanden bij deze temperatuur bewaard. Om de 5 tot 9 weken werd in de monsters de concentratie cAMP bepaald.

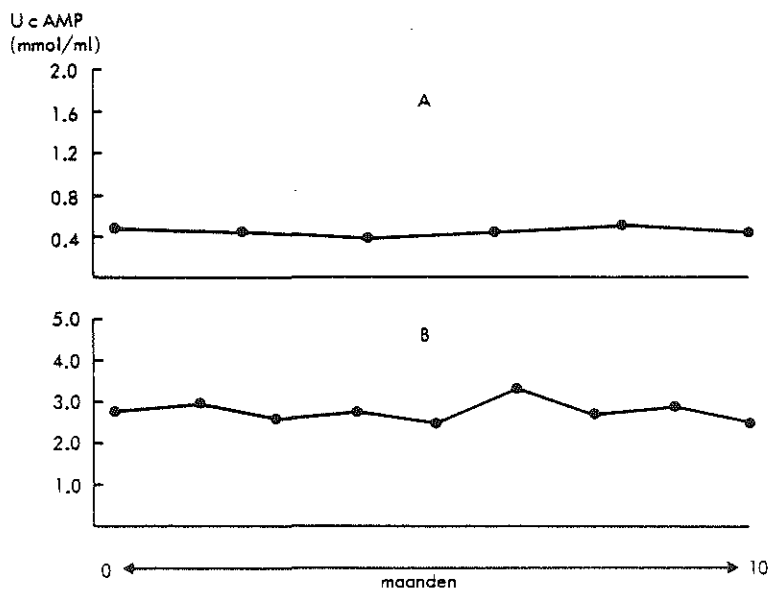
4.2.3 Resultaten

In de monsters waaraan geen zuur toegevoegd was bleek de cAMP concentratie steeds lager dan in de aangezuurde monsters (gemiddelde cAMP concentratie in portie 1: $1,54 \pm 1,28$, in portie 2: $1,06 \pm 1,15$ nmol/ml, figuur 4.1.A). In de aangezuurde monsters bleek de cAMP concentratie significant lager indien de monsters niet direct in een ijskast geplaatst werden doch eerst gedurende 60 minuten bij 38° C (portie 1: $1,54 \pm 1,28$, portie 3: $1,30 \pm 1,01$ nmol/ml, $p < 0,05$, figuur 4.1.B) of gedurende 48 uur bij kamertemperatuur (portie 1: $1,54 \pm 1,28$, portie 4: $1,33 \pm 1,09$ nmol/ml, $p < 0,02$, figuur 4.1.C) bewaard werden.

De cAMP concentratie in twee monsters welke over een periode van 10 maanden bij -20° werden opgeslagen, bleek niet duidelijk te veranderen (figuur 4.2).



Figuur 4.1: De invloed van de toevoeging van zuur en tijdelijke opslag bij hogere temperatuur op de cAMP concentratie in urinemonsters.



Figuur 4.2: Het verloop van de cAMP concentratie in twee urinemonsters (A en B) tijdens opslag bij -20° .

4.2.4 Bespreking

Verschillende onderzoekers namen waar, dat de cAMP concentratie in urinemonsters in het verloop van de tijd geleidelijk lager wordt, ook, indien de urine bij lage temperatuur bewaard werd (Broadus e.a. 1971). Een aantal bacterie soorten zijn in staat cAMP in een groeimedium af te scheiden (Peterkovsky en Gadzar 1971; Okabayashi e.a. 1963) of juist cAMP te hydrolyseren (Monard e.a. 1969; Broadus 1981). In de literatuur wordt daarom wel verondersteld, dat de vermindering van de cAMP concentratie in urinemonsters een gevolg is van bacteriële contaminatie en groei (Murad 1973; Broadus 1977). Om deze reden wordt door een aantal laboratoria geadviseerd de bacteriële groei in urinemonsters te remmen door direct na het uiturineren zoutzuur (Hardman e.a. 1966, Broadus 1977), natriummetabisulfaat (Paul e.a. 1971) of chloroform (Abdulla en Hamadah 1970) aan de monsters toe te voegen.

In ons onderzoek bleek de concentratie cAMP in de monsters, welke met zuur behandeld werden, hoger dan de concentratie in monsters waaraan geen zuur toegevoegd werd. Omdat toevoeging van HCL, in de gebruikte hoeveelheid, de cAMP bepaling niet direct beïnvloedt (Broadus 1977) bevestigen onze resultaten dat deze wijze van monsterbehandeling de stabiliteit van het cAMP in de urine verhoogt.

Zelfs in aangezuurde urine bleek het cAMP echter niet stabiel, indien de urine gedurende kortere of langere tijd bij hogere temperatuur bewaard werd. Voor de vermenigvuldiging van bacteriën is een gunstige pH van het groeimedium noodzakelijk, welke doorgaans aanmerkelijk hoger ligt dan de pH van de aangezuurde monsters (Carpenter 1967). Bacteriële groei lijkt daarom niet de enige factor welke verantwoordelijk is voor de degradatie van het cAMP in de urine. Het lijkt redelijk te veronderstellen dat, indien de cAMP concentratie in urinemonsters tijdens incubatie bij 38° reeds na 60 minuten aantoonbaar verminderd is, de cAMP concentratie ook tijdens opslag in de urineblaas terugloopt. Om deze reden lijkt het gewenst, tijdens de verzamelperiode door middel van een ruime vochttoevoer een adequate diurese bij de proefpersoon te bewerkstelligen.

Op grond van de resultaten van dit onderzoek kan geconcludeerd worden dat het van belang is een aantal voorzorgen te nemen teneinde de stabiliteit van het cAMP in verzamelde urinemonsters zoveel mogelijk te garanderen door:

- a. terstond na het uiturineren 12 N HCl (0,5 cc per verzamelaar) aan de monsters toe te voegen en
- b. de monsters direct hierop bij lage temperatuur op te slaan.

4.3 De verzorging van bloedmonsters

4.3.1 Inleiding

Bij de monsterverzorging dient men er zich rekenschap van te geven dat humaan plasma fosfodiesteraseactiviteit bevat (Broadus e.a. 1971). Fosfodiesterase wordt aangetroffen in leucocyten (Bourne e.a. 1971), trombocyten (Salzman en Weisenbergen 1972) en erythrocyten (Patterson e.a. 1975). Volgens Patterson e.a. (1975) is deze vrije fosfodiesteraseactiviteit voor een aanzienlijk deel afkomstig uit de cellulaire elementen van het bloed en vooral een gevolg van beschadiging van de trombocyten tijdens of na afname van de bloedmonsters.

De fosfodiesteraseactiviteit in het bloed kan geremd worden door theofylline aan de monsters toe te voegen (Tovey e.a. 1974); de relatief slechte oplosbaarheid van deze stof vormt echter een praktisch bezwaar. De fosfodiesteraseactiviteit is magnesiumafhankelijk (Asano en Hidaka 1975) en een in de literatuur aangegeven alternatief bestaat uit toevoeging van EDTA aan de monsters teneinde door binding van het magnesium de fosfodiesteraseactiviteit terstond te inhiberen. Tevens dient EDTA dan als anti-coagulans. In dit hoofdstuk worden onze ervaringen betreffende de stabiliteit van het cAMP in bloedmonsters met en zonder toegevoegd EDTA beschreven.

4.3.2 Proefopstelling

Bloedmonsters afkomstig van 10 patiënten werden steeds in duplo afgenomen. Het eerste monster werd opgevangen in een voorgekoelde buis, waaraan tevoren 0,1 cc 0,5 N EDTA pH 7,5 was toegevoegd (Tovey e.a. 1974), het duplomonteer in een venoject (R) heparinebuis (143 E natriumheparine).

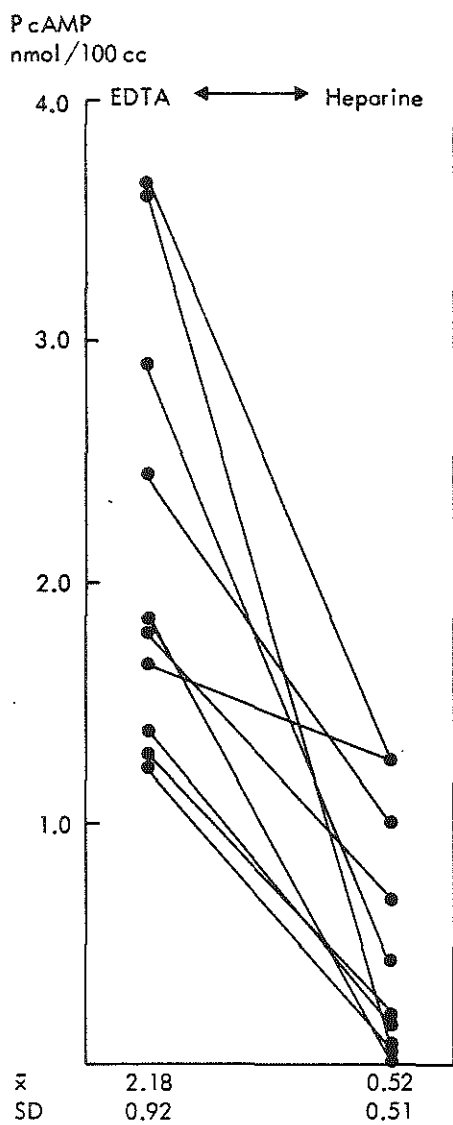
De monsters werden direct gecentrifugeerd (1500 G gedurende 20 minuten, na afpipeteren gevolgd door 2000 G gedurende 20 minuten) en in aansluiting hierop bij -20° ingevroren.

Teneinde de stabiliteit van het CAMP bij kamertemperatuur verder te onderzoeken, werden bloedmonsters afkomstig van 10 patiënten steeds in drievoud afgenomen. Alle monsters werden opgevangen in buizen waaraan tevoren 0,1 cc 0,5 N EDTA pH 7,5 was toegevoegd. Het eerste monster werd steeds in een voorgekoelde buis opgevangen, binnen 15 minuten op de bovenbeschreven wijze gecentrifugeerd en direct hierna bij -20° opgeslagen. Het tweede monster werd steeds op dezelfde wijze bewerkt met dit verschil, dat het plasma na het centrifugeren gedurende acht uur bij kamertemperatuur bewaard werd. Het derde bloedmonster werd gedurende 24 uur bij kamertemperatuur bewaard, vervolgens gecentrifugeerd en hierna bij -20° opgeslagen.

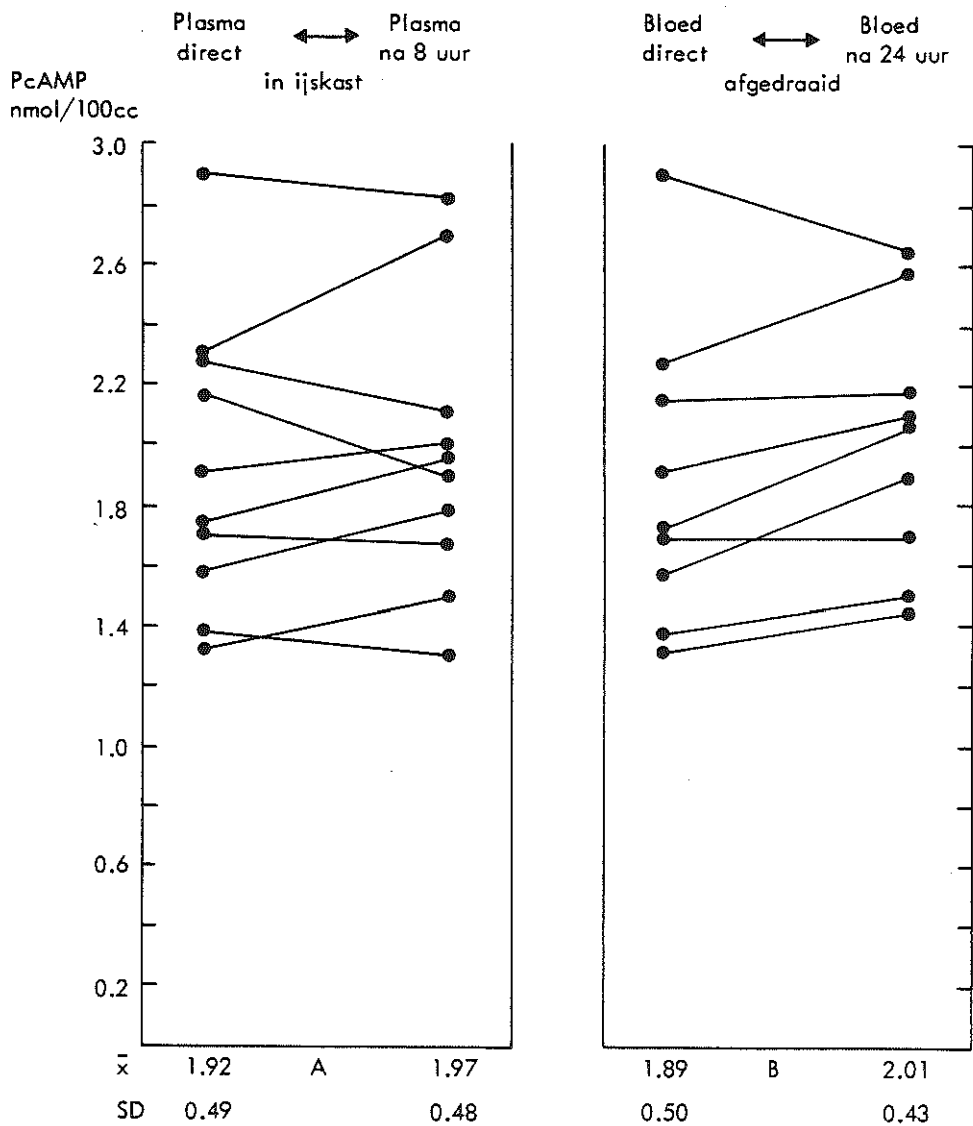
4.3.3 Resultaten

In alle gevallen was de CAMP concentratie in het duplomonster opgevangen met heparine aanzienlijk lager dan in het monster waaraan EDTA was toegevoegd (gemiddelde waarden: 0,52 vs 2,18 nmol/100 cc; figuur 4.3).

Indien het plasma na afdraaien gedurende 8 uur bij kamertemperatuur bewaard werd alvorens het in te vriezen, veranderde de CAMP concentratie niet duidelijk ten opzichte van de gevonden waarden bij direct invriezen (gemiddeld: 1,97 vs 1,92 nmol/100 cc; figuur 4.4.A). Indien de bloedmonsters gedurende 48 uur bij kamertemperatuur bewaard werden, bleek de CAMP concentratie gemiddeld wel iets hoger (2,01 vs 1,89 nmol/100 cc; figuur 4.4.B); het verschil was bij toepassing van de gepaarde t-test niet significant. Omdat echter in 7 van de 9 (één monster ging verloren) monsters de CAMP concentratie in het bij kamertemperatuur bewaarde monster hoger was, werd een rangrekentoets (de Jonge 1963) verricht. Bij een onbetrouwbaarheidsdrempel van 0,05 (eenzijdige toetsing) kon de hypothese dat de gevonden verschillen op toeval berustten, verworpen worden.



Figuur 4.3
De plasma cAMP concentratie in EDTA en heparine duplomonsters.



Figuur 4.4

De effecten van kamertemperatuur op de cAMP concentratie in EDTA plasma en bloedmonsters.

4.3.4 Bespreking

De cAMP concentratie bleek in de heparinemonsters aanzienlijk lager dan in de EDTAmonsters. Omdat EDTA niet met de door ons gebruikte assay interfereert (Tovey e.a. 1974) kan hieruit geconcludeerd worden, dat door toevoeging van EDTA de afbraak van het cAMP in de monsters geblokkeerd werd. Deze conclusie is in overeenstemming met de onderzoeksresultaten van Tovey e.a. (1974) en Broadus (1977).

Indien plasma gedurende 8 uur of EDTA bloed gedurende 24 uur bij kamertemperatuur bewaard werd, verminderde de cAMP concentratie in de monsters niet. Bij gebruik van EDTA bloed lijkt de noodzaak om monsters in voorgekoelde buizen op te vangen en zorg te dragen voor voortdurende afkoeling tussen het moment van monsterafname en monsteropslag b.v. door gebruik van een koelcentrifuge (Tovey e.a. 1974; Murad 1973) dan ook niet aanwezig. Het feit dat zelfs bij -20° fosfodiesteraseactiviteit in onbehandeld plasma aantoonbaar is (Patterson e.a. 1971; O'Dea e.a. 1971) onderstreept de betekenis van de toevoeging van EDTA.

Bij de monsterverzorging dient men zich er verder rekenschap van te geven dat bloedplaatjes en leucocyten relatief hoge concentraties cAMP bevatten (Stossel e.a. 1970). Om deze reden is het van belang de cellulaire elementen van het bloed tijdens het centrifugeren zo volledig mogelijk van het plasma te scheiden. Na centrifugatie bij 1600-2000 g bevat het plasma vrijwel geen leucocyten meer en nog slechts 4-8% van het oorspronkelijk aantal bloedplaatjes. Bij het overpipeteren van het plasma dient men er zorg voor te dragen, medenemen van de "buffy coat" zoveel mogelijk te vermijden, omdat hierdoor de cAMP concentratie in de monsters met ongeveer 20% toe kan nemen (Broadus 1977). De stijging van de cAMP concentratie in 7 van de 9, gedurende 48 uur bij kamertemperatuur bewaarde bloedmonsters is wellicht eveneens een gevolg van het vrijkomen van cAMP uit de leucocyten en bloedplaatjes, en pleit ervoor de scheiding van cellulaire elementen zo snel mogelijk uit te voeren.

4.4 De variabiliteit van de cAMP bepaling

De intraassayvariatie van de cAMP bepaling, uitgevoerd in urine volgens de door Tovey e.a. (1974) beschreven methode, werd berekend uit een precisieprofiel geconstrueerd met behulp van 559 in duplo verrichte bepalingen, allen uitgevoerd op het endocrinologisch laboratorium van het Bergwegziekenhuis. Bij een cAMP concentratie in de urine van 2-10 nmol/l bedroeg de variatiecoëfficiënt constant 4,5-5%. Bij lagere concentraties cAMP in de monsters was de variatiecoëfficiënt hoger (bij 1 nmol/l: 6,0%; bij 0,5 nmol/l: 8,2%).

De interassayvariatie van duplobepalingen, uitgevoerd op urine, werd berekend door steeds, indien in een groep monsters de cAMP concentratie werd bepaald, de concentratie cAMP in twee, bij -20° opgeslagen monsters mee te bepalen. De variatiecoëfficiënt, berekend uit de gevonden concentraties cAMP in het eerste monster (gemiddelde concentratie: 2,8 nmol/ml) bedroeg 8,9%; berekend uit het tweede monster (gemiddelde cAMP concentratie 0,43 nmol/ml) bedroeg de variatiecoëfficiënt 10,6%.

4.5 De invloed van lichamelijke inspanning op de plasma cAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine

Bij vier gezonde medewerkers van het Bergwegziekenhuis werd het effect van lichamelijke inspanning op de plasma cAMP concentratie, de totale en de nefrogene cAMP excretie nader bestudeerd.

4.5.1 Proefopstelling

Op de ochtend van het onderzoek werd de nuchtere proefpersonen gevraagd om 09.00 uur zo volledig mogelijk uit te urineren. Om 09.00 uur en vervolgens ieder uur werd 250 cc water per os toegediend teneinde een voldoende diurese te bewerkstelligen. Van 09.00 tot 10.00 uur (periode 1) van 10.00 tot 10.45 uur (periode 2) en van 10.45 tot 11.45 uur (periode 3) werd urine verzameld terwijl halverwege iedere periode bloedmonsters afgenomen werden. In de bloed- en urinemonsters werden steeds de concentraties kreatinine en cAMP bepaald.

Gedurende de eerste en derde periode bevonden de proefpersonen zich in liggende houding op een bed. Van het begin tot het einde van de tweede periode werd de proefpersoon lichamelijk belast met behulp van een fietsergometer, waarbij gestreefd werd naar een voortdurende belasting van 60 Watt.

4.5.2 Resultaten

De waarden van de plasma-cAMP concentratie, de totale en nefrogene cAMP excretie tijdens de drie periodes zijn vermeld in tabel IV.1 en figuur 4.5.

Bij alle proefpersonen was de plasma-cAMP concentratie in de tweede periode hoger dan in de eerste periode: gemiddeld bedroeg het verschil 0,75 nmol/100 cc. In de derde periode was de plasma-cAMP concentratie steeds hoger dan in de eerste periode, doch lager dan in de tweede periode.

De totale cAMP excretie nam bij de eerste, tweede en derde proefpersoon tijdens de tweede periode toe en veranderde bij de vierde proefpersoon niet duidelijk; gemiddeld was de cAMP excretie in de tweede periode 0,26 nmol/100 cc GF hoger dan in de eerste verzamelperiode.

De nefrogene cAMP excretie was bij de eerste, derde en vierde proefpersoon tijdens de tweede periode beduidend lager dan tijdens de eerste periode, terwijl bij de tweede proefpersoon de nefrogene cAMP excretie in beide periodes vrijwel gelijk was. Gemiddeld was de nefrogene cAMP excretie tijdens de tweede periode 0,46 nmol/100 cc GF lager dan tijdens de eerste periode.

4.5.3 Bespreking

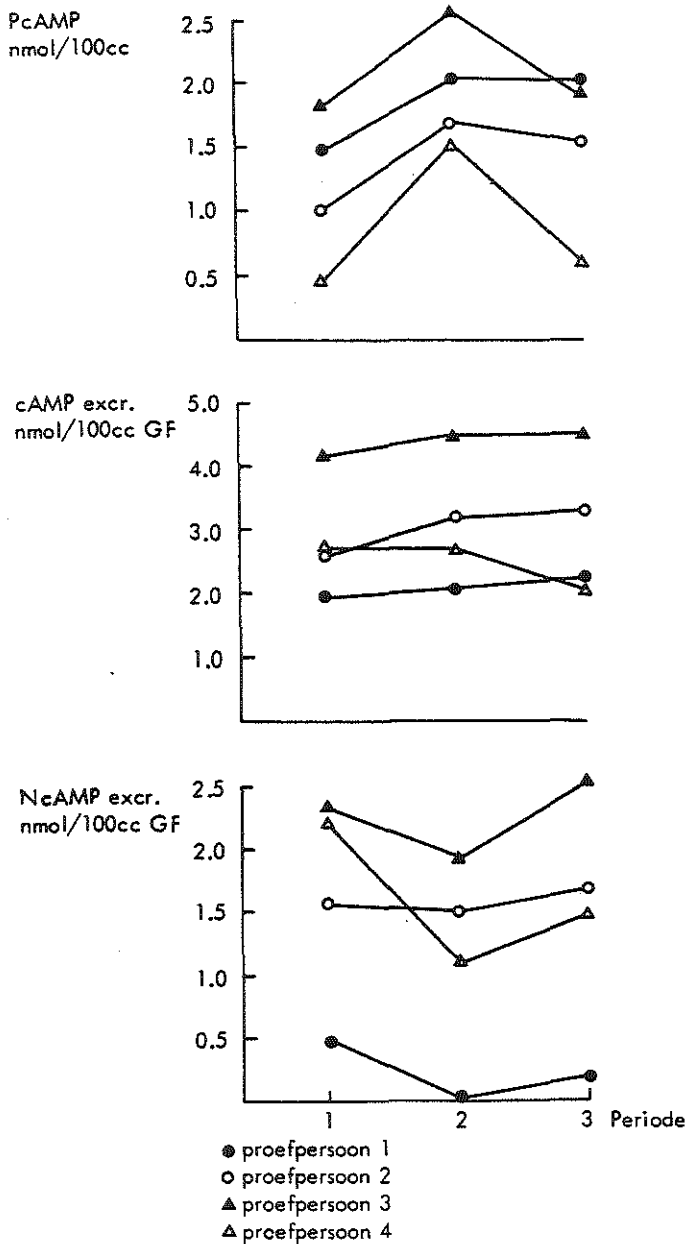
Eccleston e.a. (1970) en Williams e.a. (1972) namen waar dat de cAMP excretie in de urine, uitgedrukt in nmol/24 uur en nmol/mg kreatinine, tijdens inspanning groter wordt. Lin (1978) zag bij 12 proefpersonen tijdens inspanning de plasma cAMP concentratie sterk stijgen, terwijl er slechts een geringe, niet significante toename van de cAMP excretie in de urine (nmol/mg kreatinine) optrad.

PcAmp (nmol/100cc)			
	per. 1	per. 2	per. 3
Proefpersoon 1	1,46	2,04	1,99
Proefpersoon 2	1,04	1,68	1,56
Proefpersoon 3	1,80	2,55	1,94
Proefpersoon 4	0,48	1,52	0,60

TcAMP-excretie (nmol/100cc GF)			
	per. 1	per. 2	per. 3
Proefpersoon 1	1,95	2,09	2,20
Proefpersoon 2	2,60	3,20	3,26
Proefpersoon 3	4,14	4,48	4,49
Proefpersoon 4	2,70	2,66	2,11

NcAMP-excretie (nmol/100cc GF)			
	per. 1	per. 2	per. 3
Proefpersoon 1	0,49	0,05	0,21
Proefpersoon 2	1,44	1,52	1,70
Proefpersoon 3	2,34	1,93	2,55
Proefpersoon 4	2,22	1,14	1,51

Tabel IV 1: Veranderingen in de plasma cAMP-concentratie (PcAMP), de totale cAMP-excretie (TcAMP) en de nefrogene cAMP-excretie (NcAMP) tijdens inspanning. Per. 1,2 en 3 = periode 1,2 en 3 (zie tekst).



Figuur 4.5

Veranderingen in de plasma cAMP concentratie (P cAMP), de totale cAMP excretie (TcAMP) en de nefrogene cAMP excretie (NcAMP) tijdens inspanning.

Ook in ons onderzoek was de toename van de cAMP excretie in de urine kleiner dan men op grond van de stijging van de plasma cAMP concentratie zou verwachten, doordat de nefrogene cAMP excretie tijdens de tweede periode bij drie van de vier proefpersonen afnam. De waargenomen veranderingen tonen een opvallende gelijkenis met de effecten, welke optreden tijdens beta- adrenerge stimulatie (3.2). Tijdens inspanning treden multi-pele hormonale veranderingen op, zodat op grond van onze bevindingen niet direct geconcludeerd kan worden, dat er hierbij sprake is van een oorzakelijk verband.

Hamet e.a. (1974) namen waar dat de plasma cAMP concentratie bij een groep gezonde proefpersonen in staande houding gemiddeld 42% hoger was dan in liggende houding, waarschijnlijk ten gevolge van de in staande houding verhoogde adrenerge tonus (Hamet e.a. 1973, 1974).

Gezien de door ons waargenomen effecten van inspanning en de door Hamet beschreven invloed van de lichaamshouding op de plasma cAMP concentratie lijkt het zinvol voor deze factoren te standardiseren. Om deze reden werden de in dit proefschrift beschreven onderzoeken steeds met de proefpersoon in liggende houding uitgevoerd.

4.6 De invloed van veneuze stuwning op de plasma cAMP concentratie

4.6.1 Inleiding

Van zowel praktisch als theoretisch belang is de vraag of het plasma cAMP volledig ultrafiltrabel is en/of dat er sprake is van binding aan plasmaeiwitten. Wij besloten te trachten deze vraag te beantwoorden met behulp van de door Gerbrandy e.a. (1957; 1958; 1960) beschreven in vivo filtratiemethode.

4.6.2 Proefopstelling

Bij 21 proefpersonen werd met behulp van een bloeddrukmanchet de bovenarm gedurende 7 minuten gestuwd met een druk van 90 mm Hg.

Vlak voor en aan het einde van de stuwing werden bloedmonsters afgenomen waarin de serumeiwit en plasma cAMP concentratie werden bepaald.

4.6.3 Resultaten

De resultaten zijn vermeld in tabel IV.2. De totale eiwitconcentratie in het serum steeg van gemiddeld 70,0 tot 83,3 g/l. Uitgedrukt in serumwater (Gutman en Gutman 1937) steeg de totale eiwitconcentratie van 74,7 naar 89,9 g/l, hetgeen een toename van gemiddeld 20,2% betekent. De plasma cAMP concentratie steeg ten gevolge van de stuwing van gemiddeld 2,10 naar 2,15 mmol/100 cc terwijl omgerekend in serumwater de concentratie van gemiddeld 1,97 tot 1,95 mmol/100 cc daalde.

4.6.4 Bespreking

Indien men de bovenarm stuwt, is de druk in de venen in de onderarm na korte tijd gelijk aan de druk in de bloeddrukmanchet. Ten gevolge hiervan stijgt de filtratiedruk in de capillairen. De mate waarin de concentratie van een stof in het plasma tijdens stuwing verandert geeft dan aan, in hoeverre deze stof de capillairwand passeert. Na correctie voor het waterverlies uit het plasma ten gevolge van de stuwing komt de verhouding tussen de procentuele stijging van een component van het plasma en de procentuele stijging van het plasma-eiwit dan overeen met het percentage van deze component dat niet filtrabel is (Gerbrandy e.a. 1957; 1958; 1959). Ondanks een stijging van de totale eiwitconcentratie van 20,2% veranderde de cAMP concentratie in het plasma door de stuwing in het geheel niet. Derhalve moet aangenomen worden dat het cAMP in het bloed in het geheel niet aan eiwit gebonden is en volledig ultrafiltrabel is. De praktische consequentie hiervan is, dat men bij de monsterafname niet bevreesd hoeft te zijn voor een te hoge uitslag van de bloedbepaling ten gevolge van langdurig stuwen.

Proef- persoon	T.E. Concentratie		Plasma cAMP	
	voor	na	voor	na
	stuwen		stuwen	
1	75,7	90,5	2,56	2,59
2	70,8	82,5	1,78	1,76
3	69,1	81,4	1,49	1,53
4	71,7	85,6	1,45	1,52
5	70,0	85,2	2,77	3,22
6	65,3	82,2	2,38	2,69
7	65,1	72,7	1,81	1,93
8	75,0	85,3	3,18	2,84
9	65,6	76,1	2,50	2,42
10	71,5	85,0	1,82	1,84
11	59,8	69,7	1,34	1,61
12	72,0	80,5	1,67	1,65
13	67,3	78,1	2,19	2,55
14	67,0	81,0	2,48	2,38
15	66,0	83,2	2,03	2,00
16	65,8	77,0	1,66	1,74
17	73,9	85,3	2,43	2,43
18	73,6	98,1	1,88	1,98
19	77,7	93,8	1,58	1,66
20	75,7	90,5	3,65	3,41
21	71,7	85,6	1,35	1,37
22				
Gemiddelde	70,0	83,3	2,10	2,15

Tabel IV 2: De totale eiwitconcentratie in het serum en de plasma cAMP concentratie voor en na 7 minuten stuwen bij 90 mm Hg.

5. VRAAGSTELLINGEN

In de verdere hoofdstukken wordt getracht een nader antwoord te geven op de volgende vraagstellingen:

1. De cAMP excretie in de urine is een bruikbare maat gebleken voor de PTH activiteit bij de individuele patiënt (zie 3.1). Uitgedrukt in nmol/100 cc GFR blijkt deze maat voor de biologische PTH activiteit vrijwel onafhankelijk van nierfunctie (zie 2.4) en hoeveelheid diurese (zie 3.3). In de literatuur wordt verschillend gedacht over de vraag of bij de verschillende ziekte-toestanden welke gepaard gaan met een verhoogde bij-schildklieractiviteit het renale adenylcyclasesysteem in eenzelfde mate gevoelig is voor veranderingen in de bij-schildklierhormoonconcentratie. Er is daarom behoefte aan een maat waarmee deze gevoeligheid in vivo gekwantificeerd kan worden. De bij-schildklieren kunnen in vivo gestimuleerd worden door infusie van EDTA. Wij vroegen ons af, of, indien men voor en tijdens infusie van EDTA steeds gelijktijdig de iPTH concentratie en de cAMP excretie in de urine bepaalt, het mogelijk is uit de stijging van beide parameters een indruk te krijgen over deze gevoeligheid en of het mogelijk is deze gevoeligheid te kwantificeren b.v. als het quotiënt van de opgewekte stijging van de cAMP excretie en de opgewekte iPTH stijging. Met behulp van dit model werd getracht inzicht te krijgen in de vraag of deze PTH gevoeligheid bij primaire hyperparathyreoïdie is afgenomen zoals door anderen wel is gesuggereerd. Tevens werd getracht een antwoord te krijgen op de vraag of deze gevoeligheid bij primaire hyperparathyreoïdie even groot is als bij secundaire hyperparathyreoïdie ten gevolge van vitamine D deficiëntie. De resultaten van deze beide groepen patiënten werden vergeleken met de resultaten van een groep normocalcaemische niersteenlijders (hoofdstuk 7).
2. Het beloop van de serumcalciumconcentratie tijdens EDTA infusie is een resultante van enerzijds binding van extracellulair calcium aan EDTA en anderzijds het gelijktijdig vrijkomen van calcium uit het skelet (Parfitt 1969). Het verloop van de serumcalciumconcentratie tijdens EDTA infusie werd beschreven voor patiënten met primaire hyperparathyreoïdie, normalen en patiënten met hypoparathyreoïdie.

Wij vroegen ons af of het beloop bij patiënten met vitamine D deficiëntie hetzelfde zou zijn als bij de genoemde groepen. Om deze reden werd het beloop van de serumcalciumconcentratie tijdens de bij de in hoofdstuk 7 beschreven patiëntengroepen uitgevoerde EDTA infusietesten nader bestudeerd (hoofdstuk 8).

3. In de literatuur bestaat een controverse over de vraag of de histamine receptorantagonist cimetidine in staat is de pathologische bij schildklieractiviteit bij patiënten met primaire hyperparathyreoïdie te beïnvloeden. Een aantal patiënten met primaire hyperparathyreoïdie werd behandeld met cimetidine; het iPTH en een aantal parameters van PTH activiteit, waaronder de cAMP excretie in de urine, werden vervolgd. Aan de hand van de resultaten werd getracht de vraag te beantwoorden of cimetidine bij primaire hyperparathyreoïdie de bij schildklieractiviteit beïnvloedt (hoofdstuk 9).
4. Zowel in vitro als in vivo onderzoek heeft aanwijzingen opgeleverd dat het adrenerge zenuwstelsel mede de bij schildklierfunctie beïnvloedt. In enkele publicaties wordt melding gemaakt van een daling van de iPTH spiegel na propranololtoediening. Van β adrenoreceptor blokkers is echter niet bekend welke invloed zij hebben op het gehele systeem van de PTH secretie en de renale metabole effecten van dit hormoon. Evenmin bestaan gegevens over de duurzaamheid van een eventuele werking bij voortgezet gebruik van β blokkers. Bij een aantal patiënten met hypertensie werd de invloed van toediening van een β blokker (propranolol) op het iPTH, de serumcalciumconcentratie, de TRP en de totale cAMP excretie bestudeerd (hoofdstuk 10).
5. In overeenstemming met de resultaten van een aantal andere groepen onderzoekers werd in het Bergwegziekenhuis vastgesteld dat bij een aanzienlijk deel van de hypercalcaemische tumorpatiënten de nefrogene cAMP productie verhoogd gevonden wordt. Getracht werd nader inzicht te krijgen in de vraag welke factor hierbij verantwoordelijk is voor de activering van het renale adenylylcyclasesysteem. Verder werd onderzocht of, en in welke mate, de nefrogene cAMP excretie bij normocalcaemische tumorpatiënten reeds verhoogd is (hoofdstuk 11).

6. METHODEN EN NORMALE WAARDEN

6.1 Chemische methodieken en normale waarden

De concentraties calcium en fosfaat in bloed en urine werden bepaald met behulp van een automatic analyzer (Cenco) op de wijze beschreven door Kessler en Wolfman (1964) (normaalwaarden serum calcium concentratie: 2,20-2,60 mmol/l; serumfosfaatconcentratie 0,80-1,30 mmol/l). Het geïoniseerd calcium werd (steeds binnen 30 minuten na afname) bepaald met een nova 2 "ionised calciumanalyzer" (Nova Biomedical). De kreatinineconcentraties in bloed en urine werden bepaald met de Jaffé-reactie, de totale eiwitconcentratie in bloed met de biureetmethode. De 25 HCC concentratie in het bloed werd bepaald door Dr. W.H.P. Schreurs, CIVO-TNO (Zeist) volgens de methode beschreven door Edelstein e.a. (1974). Het betreft hier een competitieve eiwitbindingsmethode waarbij door TNO in afwijking van de door Edelstein e.a. beschreven methodiek geen gebruik wordt gemaakt van chromatografische isolatie van het steroid met behulp van een Sephadex LH-20 kolom; wel wordt een gedeeltelijk gezuiverd bindingseiwit uit ratteserum gebruikt. De door CIVO-TNO gevonden waarden bij gezonden worden, zonder seizoenscorrectie (Juttman e.a. 1981) opgegeven als 30-100 nmol/l.

6.2 Statistische methoden

De statistische berekeningen werden uitgevoerd met de Student-t-toets voor gepaarde en ongepaarde waarnemingen. Bij duidelijke afwijkingen van de normale verdeling werd, indien vermeld, de Wilcoxon toets of de rangcorrelatietoets van Kendall gebruikt (de Jonge 1963).

6.3 De PTH bepaling

Het iPTH werd bepaald op het endocrinologisch laboratorium van het Bergwegziekenhuis volgens de door Schopman, Hackeng en Lequin (1970) beschreven methode na invoering van een aantal modificaties. Het betreft hier een bepaling waarbij gebruik gemaakt wordt van een antiserum (as 311) tegen runder PTH bij de cavia opgewekt, van ^{125}I runder PTH als tracer en van runder PTH 2000 E/mg als standaard.

Teneinde beïnvloeding van de binding tussen PTH en antiserum door aspecifieke serumeiwitten te vermijden, wordt het PTH eerst geadsorbeerd aan een microkristallijn silicaat, Quso-32, waarna het hormoon gedesorbeerd wordt met 1,5% NH_3 . De totale recovery bij deze procedure, gemeten met tracer en standaardhormoon, bedraagt 90-96%. Om correcties te vermijden worden de standaarden aan hypoparathyroid serum toegevoegd en op dezelfde wijze als de monsters geëxtraheerd. Vijf dagen na het begin van de incubatie van monster of standaard en antiserum (in een incubatiemedium bestaande uit 0,1 M fosfaatbuffer, 0,5% runderalbumine en 0,01% merthiolaat pH 7,4) wordt de tracer toegevoegd. Drie dagen later worden het vrije en aan antiserum gebonden hormoon met behulp van chromatografie (0,15% dextraan 70, 1% norit) gescheiden en het vrije aan norit gebonden radioactieve hormoon gemeten met behulp van een gammaspectrofotometer.

De kruisreactie tussen runder PTH en menselijk PTH (de gewichtshoeveelheid runder versus humaan PTH nodig om eenzelfde hoeveelheid tracer van het antiserum te verdringen) bedraagt met dit systeem 1:7 met parallellisme van verdunningen van menselijk hyperparathyroid serum met de runder PTH standaardlijn.

Wordt met bovenstaande tracer en antiserum een menselijke weefselkweekstandaard, molecuulgewicht 9900 (PTH 1-84), vergeleken met één van molecuulgewicht 6500 (C regionale fragmenten), dan blijkt 1 mol (9900) de tracer net zo goed te verdringen als 12,5 mol (6500). Het is dus een typisch NC antiserum (N-regionaal en C-regionaal).

De normaalwaarde van het met behulp van dit systeem bepaalde iPTH bedraagt volgens opgave van het endocrinologisch laboratorium van het Bergwegziekenhuis 0,02-0,24 μg aeq r-PTH/l, hetgeen redelijk in overeenstemming is met de waarden, welke bij een controlegroep, bestaande uit 25 proefpersonen, gevonden werden (tabel VI.1). De maximale iPTH sprong tijdens EDTA infusie (maximaal bereikte iPTH minus uitgang iPTH) is bij normalen kleiner dan 0,20 μg aeq r-PTH/l. De intraassay en de interassayvariatie van het op de bovenbeschreven wijze bepaalde iPTH bedragen 11,1 en 10,3% (voor het gebied 0,10-0,20 μg aeq r-PTH/l).

6.4 CAMP metingen in bloed en urine

6.4.1 De CAMP bepaling in bloed en urine

De methodiek van de CAMP bepaling in bloed en urine werd reeds beschreven in 4.1.

Naar aanleiding van de resultaten van het in hoofdstuk 4 beschreven onderzoek werden steeds een aantal voorzorgen in acht genomen bij de monsterverzorging. De bloedmonsters werden opgevangen in buizen waaraan tevoren 0,1 cc 0,5 N EDTA was toegevoegd teneinde de in het monster aanwezige fosfodiesteraseactiviteit terstond te inhiberen. Na centrifugeren (1500 G gedurende 20 minuten, na afpipeteren gevolgd door 2000 G gedurende 20 minuten) werden de monsters bij een temperatuur van -20° opgeslagen. De urinemonsters werden direkt na het opvangen aangezuurd met 12N HCL (0,5 cc per verzameluur) en vervolgens bij -20° opgeslagen.

6.4.2 Gestandariseerde omstandigheden bij CAMP metingen in bloed en urine in basale toestand

De plasma CAMP concentratie, de totale en nefrogene CAMP excretie werden, tenzij anders vermeld, steeds in nuchtere toestand en in liggende houding bij onze proefpersonen bepaald. De proefpersoon werd gevraagd om 9.00 uur de blaas zo volledig mogelijk te ledigen. Om 9.00 uur, en hierna om het uur, werd 200 cc aqua dest gedronken. Om 12.00 uur werd wederom zo volledig mogelijk uitgeurineerd. In de van 9.00 tot 12.00 uur verzamelde urine werden de concentraties kreatinine en CAMP bepaald. Om 9.00 uur en 11.00 uur werd bloed afgenomen voor het bepalen van de kreatinineconcentratie en, indien tevens de nefrogene CAMP excretie werd bepaald, voor het bepalen van de plasma CAMP concentratie. Voor de berekening van de totale en nefrogene CAMP excretie werd gebruik gemaakt van de gemiddelde CAMP en kreatinineconcentraties in de om 9.00 uur en 11.00 uur afgenomen monsters.

De totale CAMP excretie werd, uitgedrukt in nmol/100 cc GF, berekend volgens de formule:

$$\frac{U_{\text{CAMP}} \times V}{Kl_{\text{Kr}}} \times 100 \text{ ofwel: } \frac{U_{\text{CAMP}} \times S_{\text{Kr}}}{U_{\text{Kr}}} : 10$$

De nefrogene cAMP excretie werd, uitgedrukt in nmol/100 cc GF, berekend volgens de formule:

$$\frac{(U_{\text{CAMP}} \times V) - (P_{\text{CAMP}} \times Kl_{\text{Kr}})}{Kl_{\text{Kr}}} \times 100 =$$

$$\frac{U_{\text{CAMP}} \times V}{Kl_{\text{Kr}}} \times 100 - P_{\text{CAMP}} \times 100 =$$

totale cAMP excretie (nmol/100 cc GF) - P_{CAMP}
(nmol/100 cc)

(S_{Kr} = serumkreatinineconcentratie in $\mu\text{mol/l}$;

U_{Kr} = urinekreatinineconcentratie in nmol/l ;

P_{CAMP} = plasma cAMP concentratie in nmol/ml ;

U_{CAMP} = urine cAMP concentratie in nmol/ml ;

V = urineproductie in ml/min ;

Kl_{Kr} = kreatinineklaring in ml/min).

6.4.3 Controlegroep

Als controlegroep fungeerden 25 proefpersonen bestaande uit 10 gezonde medewerkers van de afdeling inwendige geneeskunde van het Bergwegziekenhuis en 15 klinische patiënten, geselecteerd op grond van lichte, enkelvoudige aandoeningen waarbij botziekten, stress en endocrinologische stoornissen waren uitgesloten, terwijl ook de nier- en leverfuncties normaal waren en algemene symptomen zoals koorts ontbraken. De diagnoses van de klinische patiënten zijn in tabel VI.1 vermeld. Geen der proefpersonen had in de 40 uur, voorafgaand aan het onderzoek, medicamenten gebruikt. Bij allen werd de totale cAMP excretie op de in 6.4.2 beschreven wijze berekend. Bovendien werd bij 14 proefpersonen de plasma cAMP concentratie gemeten, zodat de nefrogene cAMP excretie eveneens bepaald kon worden.

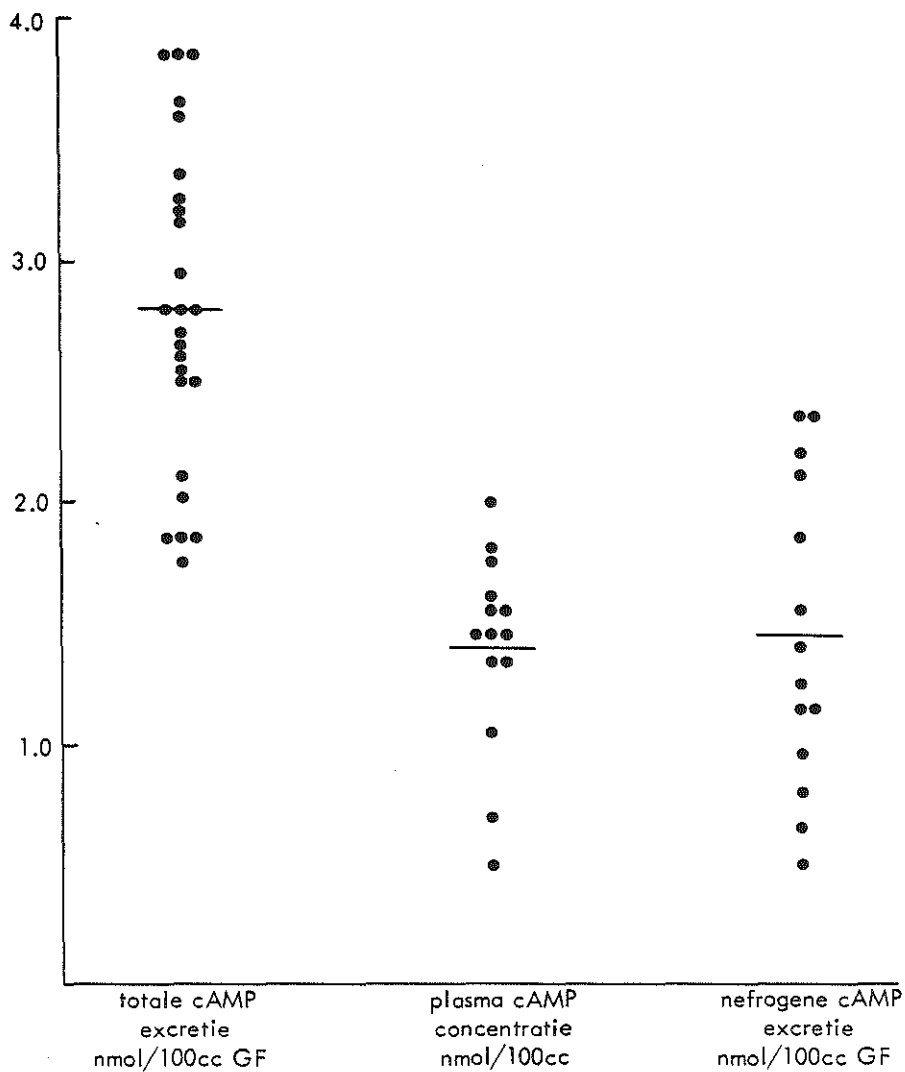
6.4.4 Resultaten en bespreking

Gegevens betreffende de normaalwaarden van de cAMP excretie, uitgedrukt in nmol/100 cc GF en bepaald in grotere series proefpersonen zijn betrekkelijk schaars. Bovendien zijn de verschillen tussen de normaalwaarden afkomstig uit verschillende laboratoria aanzienlijk. Zo vonden Broadus e.a. (1977) bij een controlegroep van 40 gezonden een nuchtere cAMP excretie (gemiddeld \pm SD) van $3,19 \pm 0,68$ nmol/100 cc GF, terwijl Pak en Galosy (1979) bij 45 gezonden een aanzienlijk hogere cAMP excretie vonden: $4,14 \pm 1,80$ nmol/100 cc GF. Alston e.a. (1980) vonden bij 12 gezonden een gemiddelde cAMP excretie van $2,45$ nmol/100 cc GF. Het is daarom noodzakelijk eigen normaalwaarden af te grenzen.

De resultaten van het eigen onderzoek bij medewerkers van het Bergwegziekenhuis en geselecteerde patiënten zijn samengevat in figuur 6.1 en tabel VI.1. De totale cAMP excretie (gemiddelde \pm SD) in de controlegroep bedroeg $2,80 \pm 0,67$ nmol/100 cc GF (spreiding: 1,75-3,85); de plasma cAMP concentratie bedroeg $1,40 \pm 0,41$ nmol/100 cc (spreiding: 0,48-2,01), de nefrogene cAMP excretie $1,45 \pm 0,65$ nmol/100 cc GF (spreiding: 0,49-2,37). De nefrogene cAMP excretie bedroeg gemiddeld 49,5% van de totale cAMP excretie.

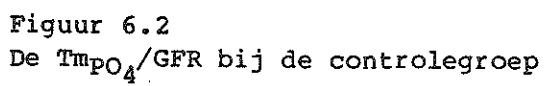
6.5 De TmpO_4/GFR , TRP en nuchtere calciumexcretie

Indien gelijktijdig met de cAMP excretie de TmpO_4/GFR werd bepaald, werd in de om 9.00 en 11.00 uur afgenomen bloedmonsters en in de verzamelde urine tevens de fosfaatconcentratie gemeten. Voor de berekening van de TmpO_4/GFR werd gebruik gemaakt van de gemiddelde fosfaat- en kreatinineconcentraties in de om 9.00 uur en 11.00 uur afgenomen bloedmonsters. De TmpO_4/GFR werd op de gebruikelijke wijze berekend met behulp van het nomogram van Walton en Bijvoet (1975). De waarden, gevonden bij de proefpersonen die de in 6.4.3 besproken controlegroepen vormden, komen redelijk overeen met de door deze onderzoekers opgegeven normaalwaarden (0,80-1,35 mmol/l; tabel VI.1 en figuur 6.2).



Figuur 6.1

De totale cAMP excretie, de plasma cAMP concentratie en de nefrogene cAMP excretie bij de controlegroep.



Diagnose	gesl	lft	Serum Ca concentratie (mmol/l)	Serum PO ₄ concentratie (mmol/l)	Serum iPTH concentratie (g aeq rPTH/l)	Tm /GFR PO ₄ (mmol/l)	totale cAMP excretie (nmol/100 cc GF)	plasma cAMP concentratie (nmol/100 cc)	nefrogene cAMP excretie (nmol/100 cc GF)	nuchtere calcium excretie (nmol/100 l GF)
1 medewerker BWZ	vr	26	2,29	0,91	0,11	1,23	2,51	-	-	-
2 medewerker BWZ	m	22	2,35	1,08	0,22	1,13	1,86	-	-	-
3 medewerker BWZ	m	22	2,44	1,05	0,20	0,89	2,94	-	-	-
4 medewerker BWZ	vr	21	2,44	0,81	0,15	0,85	3,21	-	-	-
5 medewerker BWZ	vr	32	2,34	0,92	0,10	0,82	2,63	-	-	-
6 medewerker BWZ	m	25	2,45	1,15	-	1,25	3,83	1,46	2,37	-
7 medewerker BWZ	vr	25	2,33	1,17	0,17	1,15	3,25	1,04	2,21	0,3
8 medewerker BWZ	m	25	2,39	1,08	0,22	1,39	3,64	1,80	1,84	0,8
9 medewerker BWZ	vr	28	2,27	1,20	0,21	1,09	2,02	0,48	1,54	0,6
10 medewerker BWZ	m	28	2,33	0,87	0,19	0,98	2,09	1,46	0,63	4,6
11 spastisch colon	vr	75	2,37	1,17	0,20	1,19	1,75	-	-	-
12 hyperventilatiesyndroom	m	25	2,30	1,02	0,24	1,07	2,59	-	-	-
13 cholelithiasis	vr	86	2,33	1,08	0,18	0,98	3,58	-	-	-
14 intercostaalneuralgie	vr	24	2,28	0,98	0,17	1,07	3,85	-	-	-
15 spastisch colon	m	25	2,39	0,80	0,18	0,70	3,35	-	-	-
16 choletithiasis	vr	48	2,39	1,17	0,05	1,32	1,84	1,35	0,49	5,2
17 gastritis	m	49	2,50	1,03	-	1,33	2,55	1,59	0,96	3,7
18 cholelithiasis	vr	104	2,22	1,03	0,10	0,94	1,83	-	-	3,5
19 intercostaalneuralgie	m	44	2,33	1,00	0,26	0,76	2,81	1,55	1,26	0,7
20 gastritis	m	40	2,40	1,28	0,20	1,45	2,52	1,74	0,78	0,4
21 intercostaalneuralgie	vr	19	2,38	1,36	0,18	1,24	2,70	1,57	1,13	0,4
22 spastisch colon	vr	72	2,41	1,26	0,13	1,17	3,16	2,01	1,15	1,5
23 artrose schouders	vr	49	2,48	1,22	0,22	1,13	2,78	1,37	1,41	0,7
24 giardiasis	m	34	2,35	1,15	0,20	1,13	2,81	0,69	2,12	0,5
25 frozen shoulder	m	39	2,41	0,87	0,26	0,79	3,84	1,47	2,37	0,7
gemiddelde			2,37	1,07	0,18	1,08	2,80	1,40	1,45	1,7
standaard deviatie			0,07	0,15	0,05	0,20	0,67	0,41	0,65	1,7

Tabel VI.1

De totale cAMP excretie, de plasma cAMP concentratie en de nefrogene cAMP excretie bij de controlegroep.

In het in hoofdstuk 10 beschreven onderzoek werd gebruik gemaakt van de 24-uurs TRP. De urine werd dan steeds verzameld van 9.00 uur 's ochtends tot 9.00 uur de volgende ochtend, waarbij aan het eind van de verzamelperiode in nuchtere toestand bloed afgenomen werd. De 24 uurs TRP werd berekend als:

$$\left(1 - \frac{U_P \times S_{Kr}}{U_{Kr} \times S_P}\right) \times 100\%$$

(U = urineconcentratie in mmol/l;
S = serumconcentratie in mmol/l;
P = fosfaat;
Kr = kreatinine).

Indien gelijktijdig met de cAMP excretie de nuchtere calciumexcretie werd bepaald, werd in de tussen 9.00 en 12.00 uur verzamelde urine tevens de calciumconcentratie gemeten. De nuchtere calciumexcretie, uitgedrukt in mmol/100 l GF (Nordin 1967) kon dan berekend worden volgens de formule:

$$\frac{U_{Ca} \times S_{Kr}}{U_{Kr}} \times 100$$

Bij een aantal proefpersonen uit de controlegroep werd op deze wijze de nuchtere calciumexcretie bepaald. De gevonden waarden lagen steeds tussen de 0,3 en 5,2 mmol/100 l GF (tabel VI.1).

7. DE STIJGING VAN DE cAMP EXCRETIE IN DE URINE ALS GEVOLG VAN ACUTE TOENAME VAN DE PTH SECRETIE; EEN VERGELIJKEND ONDERZOEK BIJ PATIËNTEN MET PRIMAIRE HYPERPARATHYREOIDIE, VITAMINE D DEFICIËNTIE EN EEN NIERSTEENLIJDEN

7.1 Inleiding

Onder basale omstandigheden is de excretie van cAMP in de urine, uitgedrukt in nmol/100 cc GF, bruikbaar gebleken om patiënten met primaire hyperparathyreoidie (PHP) van normalen te onderscheiden (3.1). Het is evenwel niet bekend of het effect van PTH op het renale adenylcyclase bij diverse klinische beelden gelijkwaardig is, met andere woorden of de hormonale werking van een bepaalde PTH concentratie steeds op dezelfde wijze evenredig is met de cAMP-excretie als patiënten met verschillende ziektebeelden naast elkaar en met gezonde proefpersonen worden vergeleken. De zin van deze vraag is tweeledig. Enerzijds kan men zich de praktische vraag stellen of bij de verschillende ziektebeelden waarbij de bijschildklierfunctie betrokken is, de bepaling van de cAMP excretie in de urine de iPTH bepaling als maat voor de bijschildklieractiviteit kan vervangen. Anderzijds bestaat er een theoretisch aspect namelijk de vraag of verschillende ziekte toestanden de interactie tussen hormoon en doelorgaan beïnvloeden.

Anderen hebben zich met de bovengenoemde vraagstelling beziggehouden waarbij de toename van de cAMP excretie in de urine na infusie van bovine PTH werd bestudeerd (o.a. Von Lilienfeld-Toal e.a. 1974, 1978; Tomlinson e.a. 1975; Aida e.a. 1975). Bij deze studies werd echter een farmacologische hoeveelheid PTH geïnfundeerd zodat veeleer de maximale responsiecapaciteit en niet de sensitiviteit van de nier werd onderzocht. Een tweede nadeel van deze methodiek is de mogelijke invloed welke verschillende ziektebeelden op het katabolisme van bovine PTH hebben. Eenzelfde hoeveelheid geïnfundeerd PTH leidt dan tot een verschillende concentratie welke immers mede bepaald wordt door de PTH afbraak.

De meting van de basale iPTH concentratie zoals deze in de meeste laboratoria wordt uitgevoerd, is bij lagere bloedspiegels vaak minder nauwkeurig. Dit bemoeilijkt het betrouwbaar vastleggen van de relatie tussen de basale iPTH concentratie en de cAMP excretie in de urine bij normalen en bij lichte vormen van PHP.

Slechts in ernstige gevallen waarbij het iPTH sterk verhoogd is, geeft de uitkomst van de iPTH bepaling een betrouwbare indruk over de bij schildklieractiviteit. Dit gegeven was de aanleiding om een onderzoek te verrichten naar de interactie tussen het iPTH en de nier voor en tijdens kunstmatige stimulatie van de bij schildklieractiviteit. Bovendien is in verband met de vraag naar de gevoeligheid van het renale adenylcyclase een onderzoek van de proefpersoon bij verschillende niveaus van de iPTH concentratie meer informatief over de interactie tussen hormoon en effector dan een solitaire meting; men verkrijgt voor iedere afzonderlijke proefpersoon een dosis-response curve welke zich met die van andere proefpersonen laat vergelijken en waaruit een indruk wordt verkregen over de wijze, waarop de nier reageert op veranderingen van de PTH concentratie.

De bovengenoemde overwegingen deden ons besluiten, gebruik te maken van een onderzoeksmodel waarin de PTH-secretie werd gestimuleerd en waarbij de reactie van de nier werd gemeten op veranderingen van de iPTH concentratie binnen min of meer fysiologische grenzen. De PTH secretie kan in vivo worden gestimuleerd door infusie van EDTA. Gelijktijdige bepaling van het serum iPTH en de cAMP excretie in de urine tijdens EDTA stimulatie levert dan een dynamisch proefmodel op, waarbij veranderingen in de cAMP excretie kunnen worden bestudeerd in relatie tot de opgewekte iPTH stijgingen.

Teneinde de bruikbaarheid van dit model te onderzoeken, werd binnen verschillende patiëntengroepen nagegaan of de door EDTA opgewekte stijgingen van het serum iPTH en de cAMP excretie in de urine dusdanig nauw gerelateerd zijn, dat uit deze betrekking een indruk kan worden verkregen omtrent de gevoeligheid van het PTH-responsieve renale adenylcyclase.

Met het bovenbeschreven proefmodel werden drie patiëntengroepen onderzocht:

- groep 1: een controlegroep bestaande uit normocalcaemische niersteenpatiënten;
- groep 2: patiënten met primaire hyperparathyreoidie (PHP) en
- groep 3: patiënten met vitamine D deficiëntie.

Door de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem met behulp van het beschreven proefmodel te kwantificeren, werd getracht een antwoord te krijgen op de in de literatuur controversieel beantwoorde vraag of de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij patiënten met PHP lager is dan normaal. Verder werd nagegaan hoe deze gevoeligheid bij patiënten met een secundaire hyperparathyreoidie ten gevolge van vitamine D deficiëntie zich verhoudt tot die van patiënten met PHP en de patiënten uit de controlegroep.

7.2 Patiënten en methoden van onderzoek

Groep 1 omvatte 11 patiënten met een niersteenlijden (tabel VII.1). Alle patiënten waren normocalciaemisch; bij 3 van hen bestond een hypercalciurie (gedefinieerd als een calciumexcretie groter dan 7,5 mmol/24 uur tijdens vrij dieet; Pak e.a. 1975), bij 5 patiënten was de calciumexcretie kleiner dan 7,5 mmol/24 uur en 3 patiënten werden op dit punt niet onderzocht. Deze patiënten fungeerden in dit onderzoek als controlegroep, omdat geen EDTA testen bij gezonden werden uitgevoerd. De basale waarden van het iPTH en de cAMP excretie (gemiddeld \pm SD) verschilden echter niet van de waarden, gevonden bij de groep van 25 gezonden, beschreven in 6.4.3 (iPTH: gezonden $0,180 \pm 0,05$, niersteenpatiënten: $0,172 \pm 0,04$ $\mu\text{g aeq rPTH/l}$; cAMP excretie: gezonden $2,80 \pm 0,67$, niersteenpatiënten $2,68 \pm 0,61$ nmol/100 cc GF). In overeenstemming met de bevindingen van anderen (Lockefeer e.a. 1977) was de maximale stijging van het iPTH tijdens de EDTA infusietest bij allen kleiner dan $0,20$ $\mu\text{g aeq rPTH/l}$.

Groep 2 omvatte 14 patiënten met een PHP (tabel VII.2). Bij 11 van hen werd de diagnose geverifieerd door middel van halsexploratie. De 3 patiënten die niet geopereerd werden hadden allen een persisterende, niet op andere gronden te verklaren hypercalciaemie, een verlaagde serum PO_4 concentratie, een verlaagde TmPO_4/GFR en een verhoogde serum iPTH concentratie met een supranormale toename tijdens EDTA infusie (Lockefeer e.a. 1974).

Patiënt no.	gesl	lft	Serum Ca concentratie mmol/l	Serumkreat concentratie μ mol/l	serumiPTH concentratie μ g rPTH/l	Δ iPTH μ g rPTH/l	cAMP excretie nmol/100cc GF	Calcium excretie mmol/24u
1	vr	54	2,32	67	0,22	0,17	2,44	7,3
2	vr	60	2,61	68	0,205	0,10	2,85	-
3	m	52	2,45	68	0,145	0,10	3,26	13,0
4	m	45	2,43	65	0,18	0,12	3,18	7,4
5	m	31	2,10	68	0,155	0,17	1,60	11,5
6	m	59	2,29	112	0,185	0,14	3,35	-
7	m	27	2,48	80	0,215	0,12	2,06	8,6
8	vr	26	2,44	90	0,185	0,14	3,16	4,7
9	vr	42	2,49	61	0,13	0,19	2,98	7,5
10	m	51	2,42	66	0,10	0,11	2,81	-
11	m	48	2,32	109	0,17	0,11	1,83	6,3

Tabel VII.1

Onderzochte patiënten met een niersteenlijden. De waarden van de serum calcium-, kreatinine en iPTH concentraties zijn de gemiddelden van de bij de EDTA test op t-60 en t0 (controleuur) gevonden concentraties. De Δ iPTH geeft het verschil weer tussen het maximale iPTH, bereikt tijdens de EDTA test, en de uitgangswaarde. De cAMP excretie werd berekend uit de serum kreatinineconcentratie en de cAMP en kreatinineconcentratie in de tussen t-60 en t0 verzamelde urine. De weergegeven calciumexcretie geeft de gemiddelde calciumexcretie weer, bepaald uit tenminste drie 24 uurs urineporties tijdens vrij dieet.

Patiënt no.	gesl	lft	Serum Ca concentratie (mmol/l)	Serumkreat concentratie (μ mol/l)	Serum PO ₄ concentratie (mmol/l)	Tm /GFR PO ₄ (mmol/l)	serum iPTH concentratie (μ g rPTH/l)	iPTH (μ g rPTH/l)	cAMP excretie (nmol/100cc GF)	Diagnose operatief bevestigd
1	vr	64	2,66	54	0,78	0,64	0,22	0,26	4,02	+
2	vr	70	2,49	69	1,07	0,90	0,185	0,16	2,70	+
3	vr	53	2,61	81	1,36	1,12	0,15	0,20	2,28	+
4	vr	76	2,61	85	0,66	0,34	0,33	0,39	4,44	-
5	vr	58	2,55	61	0,88	0,76	0,395	0,38	4,19	+
6	m	85	2,58	98	0,52	0,37	0,37	0,29	5,29	-
7	vr	70	2,85	74	0,63	0,45	0,435	0,50	4,64	+
8	vr	68	2,73	90	0,72	0,43	0,305	0,21	3,90	+
9	m	77	2,77	107	0,94	0,60	0,29	0,54	4,87	+
10	vr	60	2,61	73	0,50	0,34	0,25	0,72	4,24	+
11	vr	67	2,92	68	0,94	1,06	0,13	0,49	6,59	+
12	vr	78	2,64	72	0,66	0,56	0,21	0,30	3,14	-
13	vr	58	3,06	86	0,64	0,42	0,44	1,59	5,47	+
14	vr	59	2,55	74	0,85	0,64	0,305	0,38	4,98	+

Tabel VII.2

Onderzochte patiënten met PHP. De waarden van de serum calcium-, kreatinine en iPTH concentraties zijn de gemiddelden van de bij de EDTA test op t-60 en t0 (controleuur) gevonden concentraties. De Δ iPTH geeft het verschil weer tussen het maximale iPTH, bereikt tijdens de EDTA test, en de uitgangswaarde. De cAMP excretie werd berekend uit de serumkreatinineconcentratie en de cAMP en kreatinineconcentratie in de tussen t-60 en t0 verzamelde urine. De Tm_{PO₄}/GFR en de serumfosfaatconcentratie werden op een afzonderlijke ochtend bepaald vanwege de invloed van de tijdens het controleuur geïnfundeerde glucoseoplossing op de serumfosfaatconcentratie (zie hoofdstuk 8).

Patiënt no.	gesl	lft	Serum Ca concentratie (mmol/l)	Serum PO ₄ concentratie (mmol/l)	Serumkreat concentratie (mol/l)	Serum Mg concentratie (mmol/l)	Serum apase concentratie BLE	Serum TE concentratie g/l	25 HCC concentratie (nmol/l)	Klinische diagnose
1	vr	84	2,38	0,95	87	0,88	4,1	72,0	6	anorexia+vermagering; oesofagitis.
2	vr	83	1,78	0,92	85	0,79	3,9	50,7	6	cachexie; atrofische gastritis; vit B12 + Fe deficiëntie; verwaarlozing
3	vr	82	2,13	1,12	115	0,88	4,1	58,7	6	cachexie; verwaarlozing; foliumzuurzuurdeficiëntie
4	vr	62	2,16	0,85	60	0,75	26,6	71,1	4	primaire biliaire cirrhose
5	m	45	2,28	1,32	95	0,65	5,7	68,4	7	chronische pancreatitis
6	vr	70	2,12	1,11	109	1,01	7,7	68,6	9	status na B2 resectie; gastritis; Fe deficiëntie; osteoporose
7	vr	31	2,06	1,08	69	0,92	3,5	67,2	12	chronisch malabsorpties.; cachexie; lactasedeficiëntie
8	m	85	2,14	1,05	101	0,84	12,0	61,8	9	status na B2 resectie; compressiefractuur Th 10
9	vr	61	1,93	1,59	83	0,99	12,2	70,8	7	micronodulaire lever-cirrhose
10	vr	78	2,18	1,03	58	0,74	7,6	66,0	N.B.	st. na Whippleoperatie (1959); steatorrhoe
11	m	63	2,44	1,06	51	-	10,3	58,3	4	verwaarlozing; tuberculose
12	m	75	2,41	0,65	64	0,75	6,0	85,0	4	chronisch malabsorptiesyndroom; st. na dunndarmresectie (mesenteriaaltrombose)
13	vr	75	2,05	0,94	80	0,99	6,3	70,6	12	chronische pancreatitis, steatorrhoe

Tabel VII.3

Onderzochte patiënten met vitamine D deficiëntie.

De waarden van de serum calcium- en kreatinineconcentraties zijn de gemiddelden van de bij de EDTA test op t-60 en t0 (controleuur) gevonden concentraties; de serum magnesium en totaal eiwitconcentratie werden bepaald in een op t0 afgenomen bloedmonster.

Groep 3 (tabel VII.3) omvatte 13 patiënten met een vitamine D deficiëntie. Deze patiënten waren geselecteerd uit een groep van 16 patiënten, waarbij op grond van een predisponeerde aandoening het bestaan van een vitamine D deficiëntie werd vermoed. In afwachting van het resultaat van de 25 HCC bepaling werd een EDTA test bij de patiënten uitgevoerd, waarbij het monster voor de 25 HCC bepaling vlak voor het begin van de EDTA test afgenomen werd. Tevoren hadden wij als arbitraire grens om tot het onderzoek te worden toegelaten een 25 HCC concentratie lager dan 14 nmol/l gekozen. Bij 3 patiënten bleek de 25 HCC concentratie in het bloed hoger dan 14 nmol/l; zij werden alsnog van het onderzoek uitgesloten. Bij één patiënt (no. 10) werd de 25 HCC bepaling niet uitgevoerd; omdat bij deze patiënt het bestaan van een ernstige vitamine D deficiëntie aannemelijk was (status na Whipple operatie, zeer ernstige steatorrhoe, hypocalcaëmie) werd deze patiënt wel in deze groep opgenomen.

Alle patiënten hadden toegestemd in het onderzoek nadat zij tevoren gewezen waren op het experimentele karakter hiervan.

De EDTA test werd bij alle 38 proefpersonen in nuchtere toestand en liggende houding uitgevoerd. Om 9.00 uur (t -60) werd de proefpersoon gevraagd de blaas zo volledig mogelijk te ledigen; de betreffende urine werd weggegooid. Hierna werd op ieder heel uur tot het einde van de test zo volledig mogelijk uitgeurineerd, waarbij de betreffende porties urine werden verzameld. Tussen 10.00 uur (t 0) en 12.00 uur (t 120) werd via een infusiepompje 50 mg/kg EDTA, opgelost in 53 cc glucose 5% toegediend terwijl tegelijkertijd 30 cc novocaine 2% via een zijinfuus werd geïnfundeerd.

Bij de patiënten met vitamine D deficiëntie werd direct na de EDTA infusie (om 12.00 uur) intraveneus calciumgluconaat toegediend, waarop de test als beëindigd werd beschouwd; bij de andere groepen werd het spontane verloop van de herstelfase tot 14.00 uur gevolgd. Teneinde een ruime diurese te bewerkstelligen, werd tussen 8.00 uur en 9.00 uur 500 cc, tussen 9.00 uur en 10.00 uur 250 cc en tussen 10.00 uur en 12.00 uur en (bij de patiënten met PHP en een niersteenlijden) 12.00 uur en 14.00 uur 500 cc glucose 5% geïnfundeerd,

terwijl bovendien om 9.00 uur, en hierna ieder heel uur, 250 cc aqua dest per os werd toegediend. Om 9.00 uur en 10.00 uur en hierna om de 30 minuten (tot 14.00 uur) werden bloedmonsters afgenomen waarin de concentraties calcium, fosfaat, kreatinine, totaal eiwit, iPTH en, bij een aantal proefpersonen, geïoniseerd calcium werden bepaald, terwijl in het eerst afgenomen bloedmonster tevens de concentraties alkalische fosfatase en magnesium werden bepaald. In een aantal gevallen werd bovendien om 10.00 en 12.00 uur bloed afgenomen voor het bepalen van de cAMP concentratie. In de verzamelde urineporties werden de concentraties kreatinine en cAMP bepaald.

De cAMP excretie (nmol/100 cc GF) werd op de in 6.4.2 beschreven wijze per verzameluur berekend uit de kreatinine en de cAMP concentratie in het betreffende urinemonster en de serumkreatinineconcentratie.

De samenhang tussen de cAMP excretie en het iPTH van de corresponderende periode werd bepaald met behulp van de gemiddelde waarde berekend uit de begin- of eindwaarde (controleperiode) en de begin-, midden- en eindwaarde (hierop volgende perioden) van het iPTH (de gemiddelde iPTH oftewel de IPTH).

Teneinde veranderingen van de cAMP excretie tijdens de test te kunnen bestuderen in relatie tot veranderingen van het iPTH werd voor iedere test de Δ IPTH berekend als het verschil tussen het IPTH tijdens het tweede infusie uur en de controleperiode en de Δ cAMP excretie als het verschil in cAMP excretie tussen de betreffende perioden.

Teneinde de PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem te kwantificeren, werd zowel voor iedere patiënt afzonderlijk als voor iedere groep als geheel het quotiënt Δ cAMP excretie : Δ iPTH berekend: de PTH-sensitiviteitsindex (nmol/100 cc GF : μ g aeq rPTH/l). Deze index geeft de verandering in de cAMP excretie per eenheid iPTH verandering weer.

7.3 Resultaten

De figuren 7.1, 7.2 en 7.3 tonen de veranderingen in de gemeten parameters bij de drie patiëntengroepen. De tijdens de EDTA test gemeten waarden van de serum calcium en iPTH concentraties alsmede de berekende waarden van het iPTH en de cAMP excretie zijn vermeld in tabel VII.4 - VII.6.

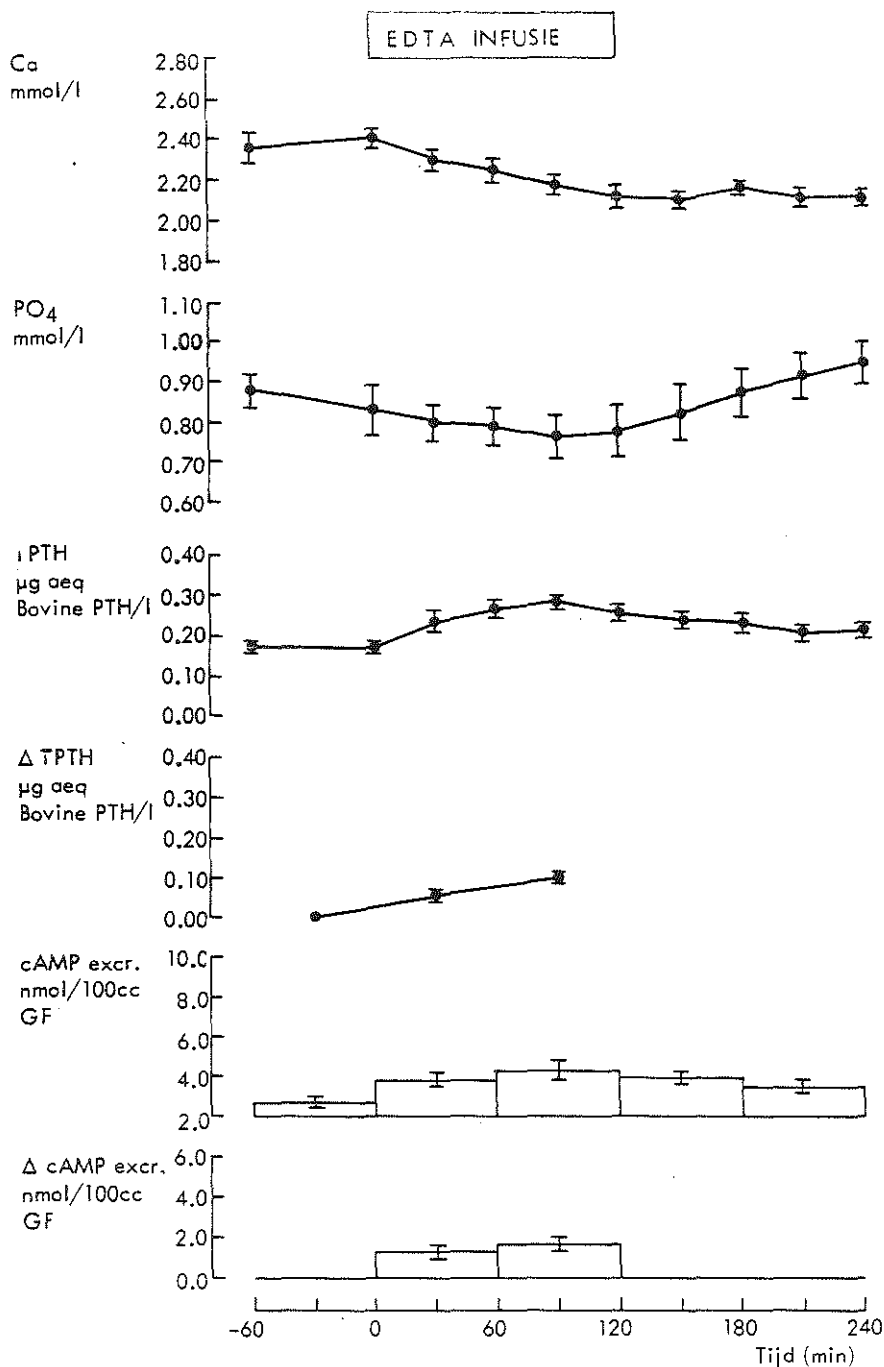
7.3.1 De serumcalciumconcentratie tijdens het controleuur

De serumcalciumconcentratie tijdens de controleperiode (berekend als de gemiddelde waarde van de concentraties op t-60 en t0) bedroeg voor de groep patiënten met een niersteenlijden (gemiddelde \pm SD) $2,40 \pm 0,13$ mmol/l en was daarmee significant lager dan de waarde gevonden bij de groep patiënten met PHP ($2,69 \pm 0,16$ mmol/l; $p < 0,001$) en significant hoger dan de waarde, gevonden bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie ($2,16 \pm 0,19$ mmol/l; $p < 0,001$).

7.3.2 Het iPTH en de cAMP excretie tijdens het controleuur

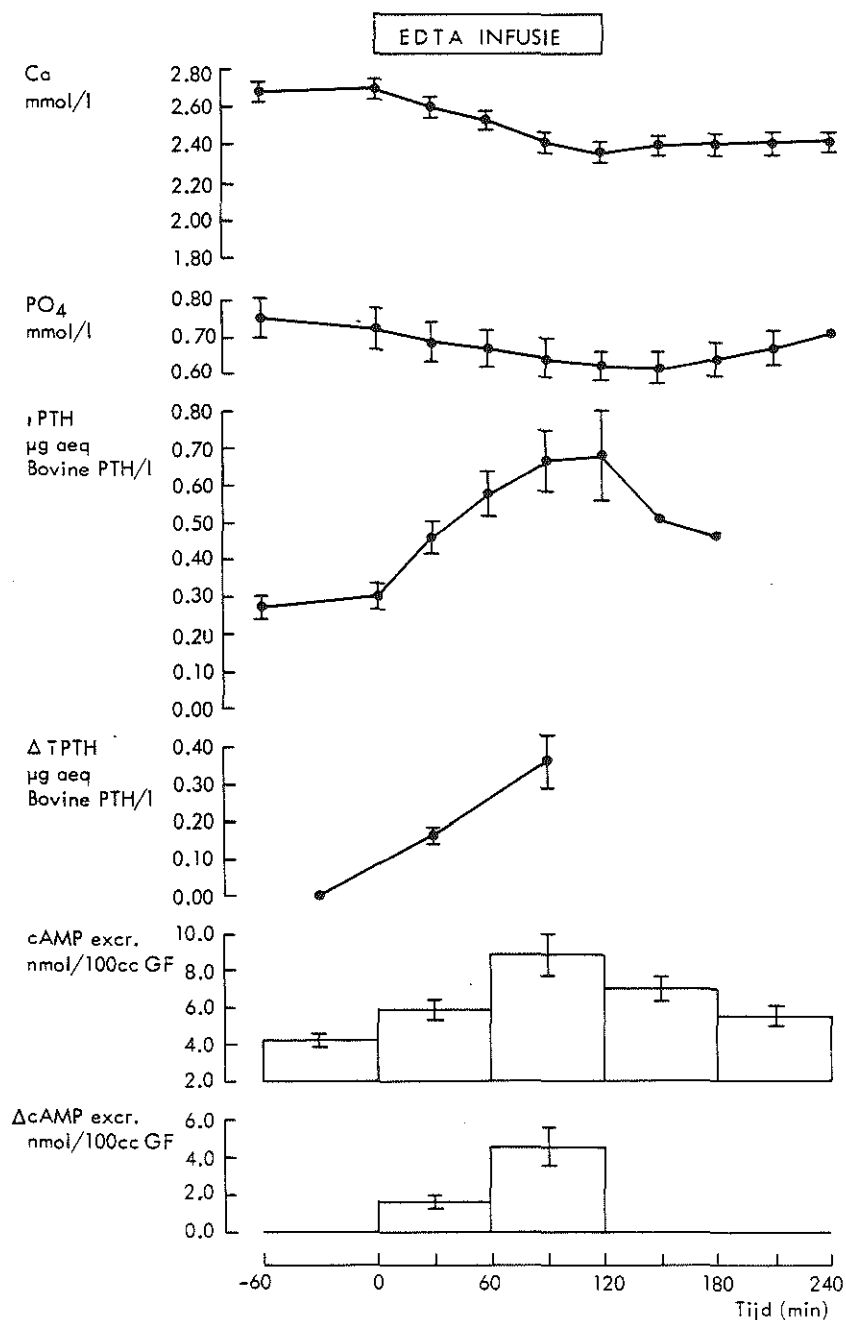
Het iPTH tijdens het controleuur (gemiddelde \pm SD) bedroeg bij de groep niersteenpatiënten $0,172 \pm 0,04$ μ g aeq rPTH/l, hetgeen significant lager is dan de waarde welke gevonden werd bij de groep patiënten met PHP ($0,287 \pm 0,10$ μ g aeq rPTH/l; $p < 0,05$) doch niet significant verschilt van de waarde, gevonden bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie ($0,202 \pm 0,05$ μ g aeq rPTH/l). Het iPTH bij de groep patiënten met PHP was significant hoger dan bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie ($p < 0,01$, tabel VII.4 - VII.6).

De cAMP excretie tijdens het controleuur bedroeg bij de groep niersteenpatiënten $2,68 \pm 0,61$ nmol/100 cc GF (gemiddelde \pm SD); deze waarde is significant lager dan de waarden, welke gevonden werden bij de patiënten met PHP ($4,34 \pm 1,14$ nmol/100 cc GF, $p < 0,001$) en de groep patiënten met vitamine D deficiëntie ($4,74 \pm 1,65$ nmol/100 cc GF, $p < 0,001$, tabel VII.4 - VII.6).



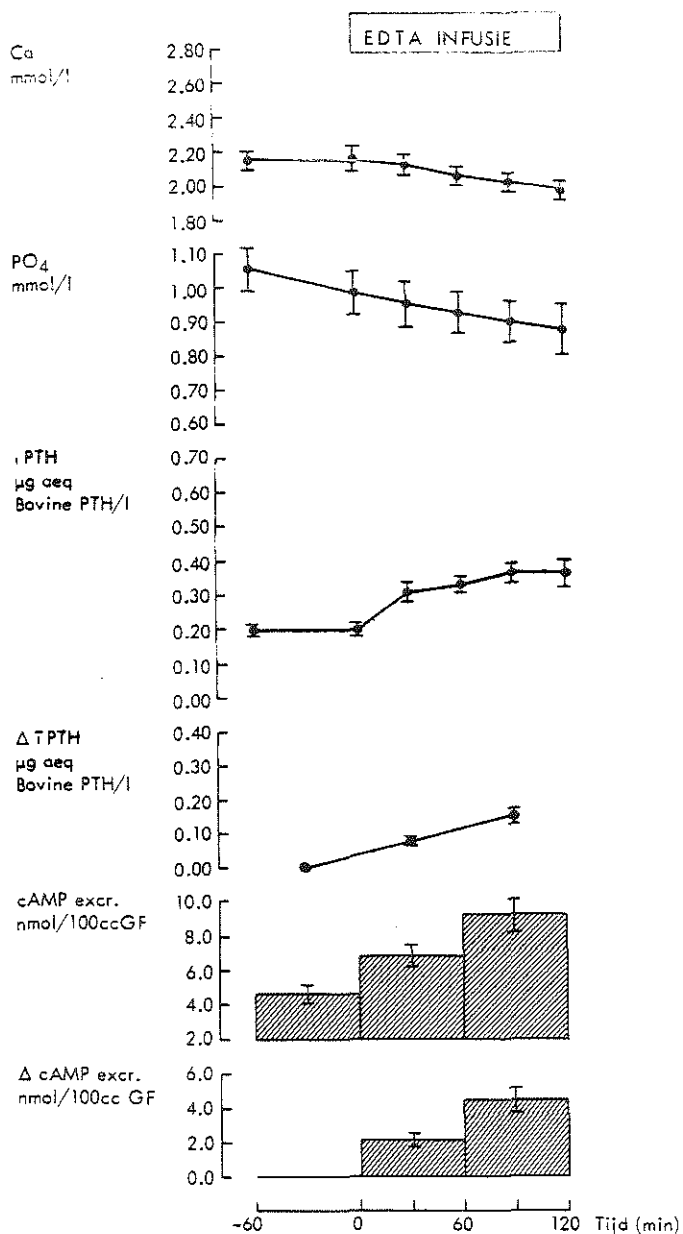
Figuur 7.1

Het beloop van de verschillende gemeten parameters (gemiddelde \pm SEM) bij de 11 patiënten met een niersteenlijden tijdens de EDTA infusietest.



Figuur 7.2

Het beloop van de verschillende gemeten parameters (gemiddelde \pm SEM) bij de 14 patiënten met PHP tijdens de EDTA infusietest.



Figuur 7.3

Het beloop van de verschillende gemeten parameters (gemiddelde \pm SEM) bij de 13 patiënten met vitamine D deficiëntie tijdens de EDTA infusietest.

Patiënt no.		t-60	t0	t30	t60	t90	t120	t150	t180	t210	t240
1	Ca	-	2,32	2,30	2,20	2,28	2,11	2,11	2,20	2,18	2,21
	iPTH	-	0,22	0,33	0,39	0,34	0,29	0,22	0,19	0,15	0,23
	TPTH		0,220		0,313		0,340		0,233		0,190
	CAMP excretie		2,44		1,52		3,70		3,48		2,71
2	Ca	2,54	2,68	2,54	2,54	2,41	2,27	2,30	2,35	-	2,18
	iPTH	0,21	0,20	-	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	-	0,22
	TPTH		0,205		0,245		0,293		0,303		0,267
	CAMP excretie		2,85		4,86		3,85		3,95		3,75
3	Ca	2,53	2,36	2,32	2,28	2,23	2,22	2,26	2,27	2,19	2,20
	iPTH	0,17	0,12	0,18	0,21	0,21	0,24	0,15	0,25	0,22	0,23
	TPTH		0,145		0,170		0,220		0,213		0,233
	CAMP excretie		3,26		3,20		5,44		5,37		3,31
4	Ca	-	2,43	2,33	-	2,34	2,24	2,10	2,10	2,00	2,01
	iPTH	0,17	0,19	0,21	0,19	0,26	0,26	0,29	0,30	0,22	0,22
	TPTH		0,180		0,197		0,260		0,283		0,247
	CAMP excretie		3,18		5,40		5,98		4,82		4,30
5	Ca	2,05	2,15	2,11	2,10	2,04	2,00	1,84	2,10	2,07	2,09
	iPTH	0,16	0,15	0,19	0,33	0,26	0,17	0,18	0,08	0,12	0,08
	TPTH		0,155		0,223		0,253		0,143		0,093
	CAMP excretie		1,60		2,64		2,42		2,64		2,75
6	Ca	2,28	2,30	2,11	2,04	2,06	2,11	2,05	2,09	2,14	2,07
	iPTH	0,17	0,20	0,29	0,32	0,33	0,28	0,32	0,31	0,29	0,31
	TPTH		0,185		0,270		0,310		0,303		0,303
	CAMP excretie		3,35		3,60		3,79		3,88		3,20
7	Ca	-	2,48	2,54	2,56	-	2,37	2,30	2,17	-	-
	iPTH	0,21	0,22	0,22	0,24	0,32	0,34	0,31	0,28	0,24	0,24
	TPTH		0,215		0,227		0,300		0,310		0,253
	CAMP excretie		2,06		3,41		3,62		2,90		2,29
8	Ca	2,39	2,49	2,33	2,27	2,17	2,04	2,07	2,19	2,16	2,13
	iPTH	0,19	0,18	0,29	0,33	0,30	0,27	0,31	0,24	0,27	0,27
	TPTH		0,185		0,266		0,300		0,273		0,260
	CAMP excretie		3,16		4,59		6,65		5,13		5,41
9	Ca	-	2,49	2,31	2,19	2,07	1,93	1,99	-	-	-
	iPTH	-	0,13	0,27	0,25	0,32	0,30	0,24	0,22	0,24	0,24
	TPTH		0,130		0,217		0,290		0,253		0,233
	CAMP excretie		2,98		4,95		4,50		-		3,47
10	Ca	2,43	2,41	2,31	2,27	2,21	2,15	2,13	2,18	2,17	2,17
	iPTH	0,10	0,10	0,14	0,15	0,21	0,17	0,14	0,17	0,13	0,17
	TPTH		0,100		0,130		0,177		0,160		0,157
	CAMP excretie		2,81		3,67		3,76		4,26		4,20
11	Ca	2,29	2,34	2,20	2,07	1,99	1,91	1,98	1,96	1,95	1,97
	iPTH	-	0,17	0,25	0,25	0,28	-	0,22	0,22	0,19	0,20
	TPTH		0,170		0,223		0,265		0,220		0,203
	CAMP excretie		1,83		2,92		3,32		3,70		3,06
Ca	gem	2,359	2,405	2,309	2,252	2,180	2,123	2,103	2,161	2,108	2,114
	SD	0,17	0,14	0,14	0,18	0,14	0,15	0,14	0,11	0,09	0,09
iPTH	gem	0,173	0,171	0,237	0,269	0,284	0,262	0,244	0,234	0,207	0,219
	SD	0,04	0,04	0,06	0,07	0,05	0,06	0,07	0,07	0,06	0,06
TPTH	gem		0,172		0,226		0,274		0,245		0,222
	SD		0,04		0,05		0,05		0,06		0,06
CAMP excr.	gem		2,68		3,80		4,28		4,01		3,50
	SD		0,61		1,03		1,26		0,90		0,88

Tabel VII.4

Het verloop van de serumcalciumconcentratie, het iPTH, de TPTH en de CAMP excretie tijdens de EDTA infusietest bij de patiënten met een nier-
steenlijden.

Patiënt no.		-60	0	+30	+60	+90	+120	+150	+180	+210	+240
1	ca	2,69	2,69	2,58	2,63	2,43	2,40	2,45	2,51	2,50	2,47
	iPTH	0,22	0,22	0,21	0,33	0,30	0,48	0,36	0,20	0,18	0,11
	rPTH	0,220	0,220	0,220	0,340	0,30	0,400	0,373	0,373	0,343	0,343
	cAMP excretie	1,02	1,02	1,02	5,62	5,62	7,52	1,97	1,97	6,64	6,64
2	ca	2,56	2,40	2,41	2,43	2,27	2,25	2,23	2,22	2,20	2,10
	iPTH	0,21	0,10	0,23	0,33	0,35	0,34	0,25	0,29	0,27	0,23
	rPTH	0,185	0,185	0,237	0,337	0,340	0,340	0,293	0,293	0,253	0,253
	cAMP excretie	2,70	2,70	2,95	2,95	4,81	4,81	4,34	4,34	3,94	3,94
3	ca	2,50	2,72	2,50	2,53	2,30	2,30	2,44	2,54	2,45	2,47
	iPTH	0,14	0,16	0,25	0,24	0,35	0,27	0,20	0,22	0,21	0,17
	rPTH	0,150	0,150	0,217	0,217	0,267	0,267	0,210	0,210	0,200	0,200
	cAMP excretie	2,25	2,25	3,29	3,29	5,29	5,29	4,76	4,76	3,19	3,19
4	ca	-	2,61	2,57	2,53	2,44	2,41	2,48	2,59	2,40	2,31
	iPTH	0,35	0,31	0,72	0,67	0,68	0,61	0,47	0,52	0,51	0,52
	rPTH	0,330	0,330	0,567	0,567	0,533	0,533	0,433	0,433	0,517	0,517
	cAMP excretie	4,44	4,44	6,19	6,19	8,44	8,44	6,71	6,71	6,00	6,00
5	ca	2,49	2,61	2,47	2,36	2,27	2,18	2,20	2,20	2,20	2,22
	iPTH	0,31	0,48	0,36	0,66	0,78	0,40	0,55	0,41	0,58	0,32
	rPTH	0,395	0,395	0,500	0,500	0,613	0,613	0,453	0,453	0,437	0,437
	cAMP	4,13	4,13	6,09	6,09	6,76	6,76	6,13	6,13	5,48	5,48
6	ca	2,55	2,60	2,48	2,49	2,54	2,33	2,21	2,22	2,30	2,38
	iPTH	0,34	0,40	0,54	0,56	0,56	0,60	0,58	0,58	0,50	0,50
	rPTH	0,370	0,370	0,500	0,500	0,500	0,607	0,587	0,587	0,527	0,527
	cAMP excretie	5,29	5,29	7,03	7,03	9,21	9,21	8,52	8,52	6,14	6,14
7	ca	2,85	2,84	2,84	2,71	2,64	2,53	2,66	2,69	2,59	2,59
	iPTH	0,42	0,45	0,61	0,74	0,84	0,94	0,69	0,63	0,64	0,63
	rPTH	0,435	0,435	0,600	0,600	0,840	0,840	0,753	0,753	0,633	0,633
	cAMP excretie	4,64	4,64	6,28	6,28	9,04	9,04	7,93	7,93	7,77	7,77
8	ca	2,70	2,76	2,72	2,61	2,52	2,47	2,47	2,47	2,50	2,49
	iPTH	0,29	0,32	0,52	0,51	0,44	0,43	0,47	0,43	0,37	0,43
	rPTH	0,305	0,305	0,450	0,450	0,440	0,460	0,443	0,443	0,410	0,410
	cAMP excretie	3,90	3,90	4,25	4,25	5,44	5,44	5,33	5,33	4,50	4,50
9	ca	2,74	2,80	2,62	2,48	2,40	2,42	2,54	2,52	2,52	2,52
	iPTH	-	0,29	0,59	0,68	0,71	0,83	0,57	0,43	0,61	0,43
	rPTH	0,290	0,290	0,520	0,520	0,710	0,740	0,610	0,610	0,490	0,490
	cAMP excretie	4,87	4,87	4,63	4,63	8,43	8,43	7,07	7,07	-	-
10	ca	2,70	2,51	2,42	2,30	2,08	2,17	2,23	2,19	2,23	2,27
	iPTH	0,23	0,27	-	0,97	0,92	0,95	0,53	-	0,35	-
	rPTH	0,250	0,250	0,620	0,620	0,947	0,947	0,740	0,740	0,350	0,350
	cAMP excretie	4,24	4,24	6,30	6,30	10,52	10,52	7,82	7,82	4,98	4,98
11	ca	2,90	2,93	2,88	2,78	2,68	2,64	2,69	2,47	2,77	2,67
	iPTH	0,10	0,16	0,27	0,51	0,60	0,62	-	-	-	-
	rPTH	0,130	0,130	0,313	0,313	0,577	0,577	-	-	-	-
	cAMP excretie	6,59	6,59	8,92	8,92	10,52	10,52	9,42	9,42	8,24	8,24
12	ca	2,56	2,72	2,48	2,48	2,21	2,22	2,26	2,16	2,27	2,22
	iPTH	0,22	0,20	0,34	0,37	0,51	0,46	0,42	0,38	0,36	0,42
	rPTH	0,210	0,210	0,363	0,363	0,510	0,447	0,420	0,420	0,387	0,387
	cAMP excretie	3,14	3,14	4,11	4,11	6,62	6,62	5,52	5,52	2,74	2,74
13	ca	3,08	3,04	2,91	2,83	2,78	2,69	2,66	2,79	2,58	2,80
	iPTH	0,42	0,46	0,72	0,97	1,54	2,03	0,98	0,93	0,82	-
	rPTH	0,440	0,440	0,717	0,717	1,51	1,51	1,31	1,31	0,875	0,875
	cAMP excretie	5,47	5,47	10,10	10,10	22,04	22,04	14,35	14,35	8,91	8,91
14	ca	2,53	2,57	2,49	2,42	2,32	2,22	2,27	2,27	2,26	2,22
	iPTH	0,27	0,34	0,40	0,49	0,69	0,67	0,56	-	-	-
	rPTH	0,305	0,305	0,410	0,410	0,617	0,617	0,615	0,615	-	-
	cAMP excretie	4,98	4,98	7,21	7,21	9,93	9,93	7,88	7,88	-	-
ca	gem	2,682	2,696	2,598	2,541	2,420	2,374	2,414	2,417	2,414	2,431
	SD	0,18	0,17	0,17	0,15	0,20	0,17	0,18	0,21	0,18	0,18
iPTH	gem	0,271	0,301	0,466	0,578	0,671	0,684	0,510	0,464	0,463	0,406
	SD	0,10	0,11	0,16	0,22	0,31	0,44	0,20	0,20	0,18	0,14
rPTH	gem	-	0,287	-	0,454	-	0,644	-	0,565	-	0,453
	SD	-	0,10	-	0,15	-	0,31	-	0,28	-	0,18
cAMP excretie	gem	-	4,34	-	5,92	-	8,91	-	7,12	-	5,62
	SD	-	1,14	-	2,04	-	4,23	-	2,53	-	1,91

Tabel VII.5

Het verloop van de serumcalciumconcentratie, het iPTH, de rPTH en de cAMP-excretie tijdens de EDTA infusietest bij de patiënten met num

Patiënt no.		t-60	t0	t30	t60	t90	t120
1	Ca	2,32	2,44	2,38	2,24	2,12	2,06
	iPTH	0,18	0,17	0,41	0,42	0,49	0,39
	iPTH		0,175		0,333		0,433
	cAMP excretie		2,57		5,97		7,13
2	Ca	1,81	1,75	1,75	1,71	1,69	1,60
	iPTH	-	0,23	0,29	0,33	0,31	0,34
	iPTH		0,230		0,283		0,327
	cAMP excretie		4,80		7,39		6,87
3	Ca	2,14	2,11	2,13	2,07	2,05	2,09
	iPTH	0,16	0,18	0,21	0,32	0,31	0,21
	iPTH		0,170		0,237		0,280
	cAMP excretie		3,81		5,69		6,97
4	Ca	2,16	2,15	1,99	1,92	1,87	1,81
	iPTH	0,15	0,15	0,28	0,31	0,42	0,21
	iPTH		0,150		0,247		0,313
	cAMP excretie		3,97		8,99		9,26
5	Ca	2,25	2,32	2,26	2,27	2,19	2,14
	iPTH	0,23	0,25	0,28	0,27	0,28	0,42
	iPTH		0,240		0,267		0,323
	cAMP excretie		5,56		6,53		8,12
6	Ca	2,04	2,20	2,18	2,14	2,05	2,01
	iPTH	0,24	0,27	0,46	0,50	0,54	0,56
	iPTH		0,255		0,410		0,533
	cAMP excretie		7,45		10,12		15,41
7	Ca	2,06	2,06	2,11	2,03	2,10	2,01
	iPTH	0,21	0,20	0,31	0,32	0,33	0,28
	iPTH		0,205		0,277		0,310
	cAMP excretie		3,19		4,93		5,83
8	Ca	2,16	2,12	2,02	1,94	1,93	1,93
	iPTH	-	0,15	0,17	0,17	0,25	0,26
	iPTH		0,150		0,163		0,227
	cAMP excretie		2,43		3,98		5,49
9	Ca	1,94	1,91	1,92	1,90	1,85	1,84
	iPTH	0,10	0,10	0,13	0,26	0,24	0,24
	iPTH		0,100		0,163		0,247
	cAMP excretie		6,25		6,60		8,86
10	Ca	2,23	2,12	2,07	2,04	1,97	1,96
	iPTH	0,26		0,47	0,42	0,40	0,73
	iPTH		0,260		0,383		0,517
	cAMP excretie		7,01		11,31		16,65
11	Ca	2,43	2,44	2,41	2,32	2,32	2,22
	iPTH	0,25	0,29	0,41	0,36	0,29	0,38
	iPTH		0,270		0,353		0,343
	cAMP excretie		6,32		7,32		12,55
12	Ca	2,42	2,40	2,40	2,25	2,25	2,10
	iPTH	0,20	0,26	0,35	0,37	0,55	0,40
	iPTH		0,230		0,327		0,440
	cAMP excretie		3,80		5,07		8,27
13	Ca	2,05	2,05	2,01	1,99	1,90	1,83
	iPTH	0,20	0,17	0,23	0,28	0,37	0,34
	iPTH		0,185		0,277		0,330
	cAMP excretie		4,59		5,87		9,05
Ca	gem	2,155	2,159	2,125	2,063	2,022	1,969
	SD	0,18	0,20	0,20	0,18	0,18	0,17
iPTH	gem	0,198	0,202	0,308	0,333	0,368	0,366
	SD	0,05	0,06	0,11	0,08	0,11	0,15
iPTH	gem		0,202		0,282		0,356
	SD		0,05		0,08		0,10
cAMP excr.	gem		4,74		6,91		9,27
	SD		1,65		2,12		3,50

Tabel VII.6

Het verloop van de serumcalciumconcentratie, het iPTH, de iPTH en de cAMP-excretie tijdens de EDTA infusietest bij de patiënten met vitamine D deficiëntie.

Terwijl dus het basale $\overline{\text{PTH}}$ bij de patiënten met PHP significant hoger was dan bij de patiënten met vitamine D deficiëntie, was de basale cAMP excretie in beide groepen gelijk.

7.3.3 De $\Delta \overline{\text{PTH}}$ en de Δ cAMP excretie in het tweede infusie-uur.

Het iPTH maximum tijdens de test werd bij elk der drie groepen patiënten steeds in het tweede infusie-uur bereikt. De $\Delta \overline{\text{PTH}}$ bedroeg voor de niersteenpatiënten (gemiddelde \pm SD) $0,102 \pm 0,026 \mu\text{g aeq rPTH/l}$, hetgeen significant lager was dan de $\Delta \overline{\text{PTH}}$ bij de patiënten met PHP ($0,357 \pm 0,258$, $p < 0,01$) en de patiënten met vitamine D deficiëntie ($0,154 \pm 0,073 \mu\text{g aeq rPTH/l}$, $p < 0,05$). De $\Delta \overline{\text{PTH}}$ bij de patiënten met PHP was significant hoger dan bij de patiënten met vitamine D deficiëntie ($p < 0,02$ tabel VII.7).

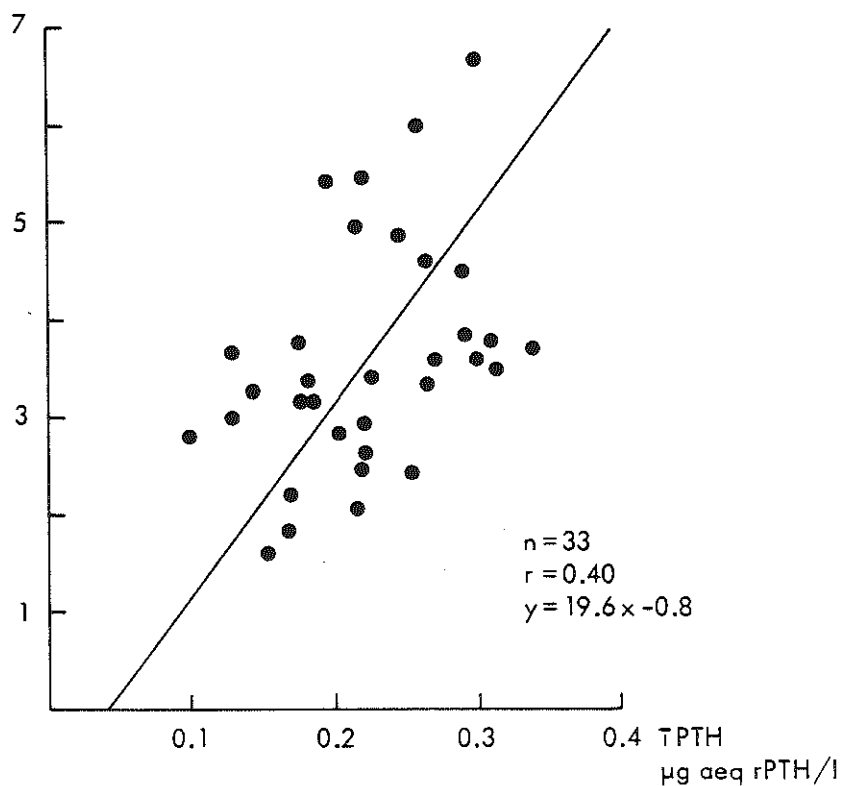
De Δ cAMP excretie bij de patiënten met een niersteenlijden (gemiddeld \pm SD) bedroeg $1,59 \pm 0,91 \text{ nmol/100 cc GF}$ en was daarmee significant lager dan de Δ cAMP excretie bij de patiënten met PHP ($4,57 \pm 3,65 \text{ nmol/100 cc GF}$, $p < 0,02$) en de patiënten met vitamine D deficiëntie ($4,52 \pm 2,29 \text{ nmol/100 cc GF}$, $p < 0,001$ tabel VII.7).

Hoewel dus de gemiddelde $\Delta \overline{\text{PTH}}$ bij de patiënten met PHP significant groter was dan bij de patiënten met vitamine D deficiëntie, bleek er tussen de beide groepen geen verschil te bestaan in Δ cAMP excretie.

7.3.4 De relatie tussen het $\overline{\text{PTH}}$ en de cAMP excretie tijdens de EDTA infusietest.

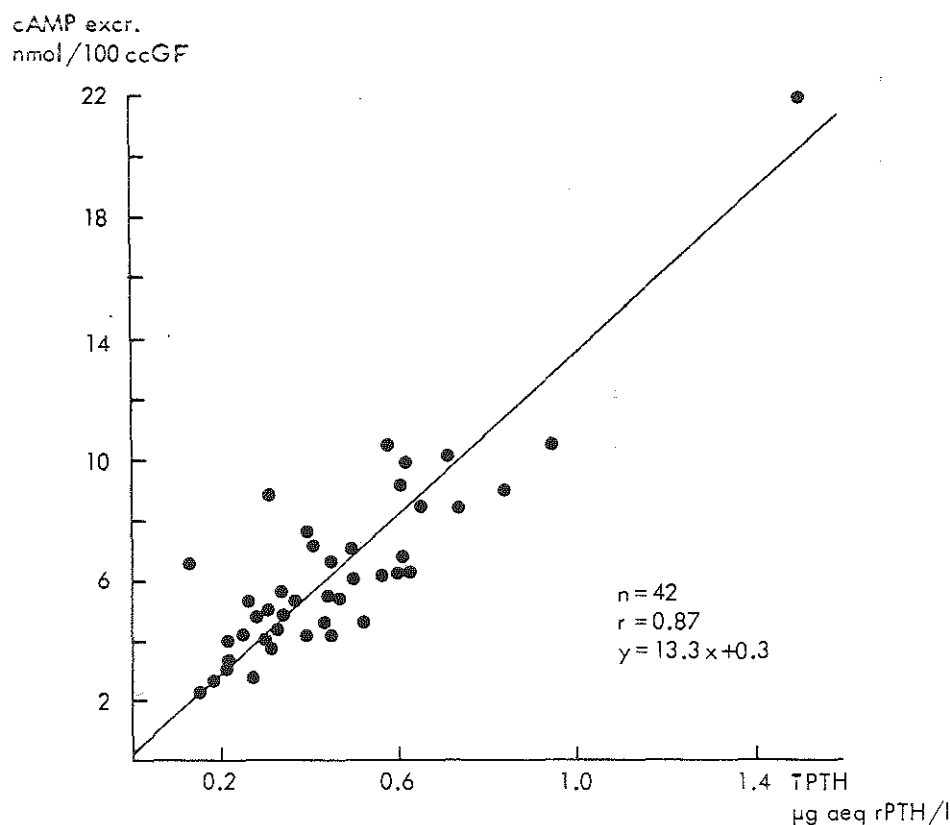
Binnen de drie groepen patiënten bleek steeds een samenhang aantoonbaar tussen het $\overline{\text{PTH}}$ en de cAMP excretie (figuur 7.4 - 7.6). Bij de patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie was er sprake van een nauwe lineaire samenhang. De hellingshoek van de regressielijn was bij de patiënten met vitamine D deficiëntie aanmerkelijk groter dan bij de patiënten met PHP. De gevonden samenhang bij de patiënten met een niersteenlijden laat zich niet goed met die der andere groepen vergelijken omdat de spreiding van zowel het iPTH als de cAMP excretie aanmerkelijk kleiner is.

cAMP excr.
nmol/100 cc GF



Figuur 7.4

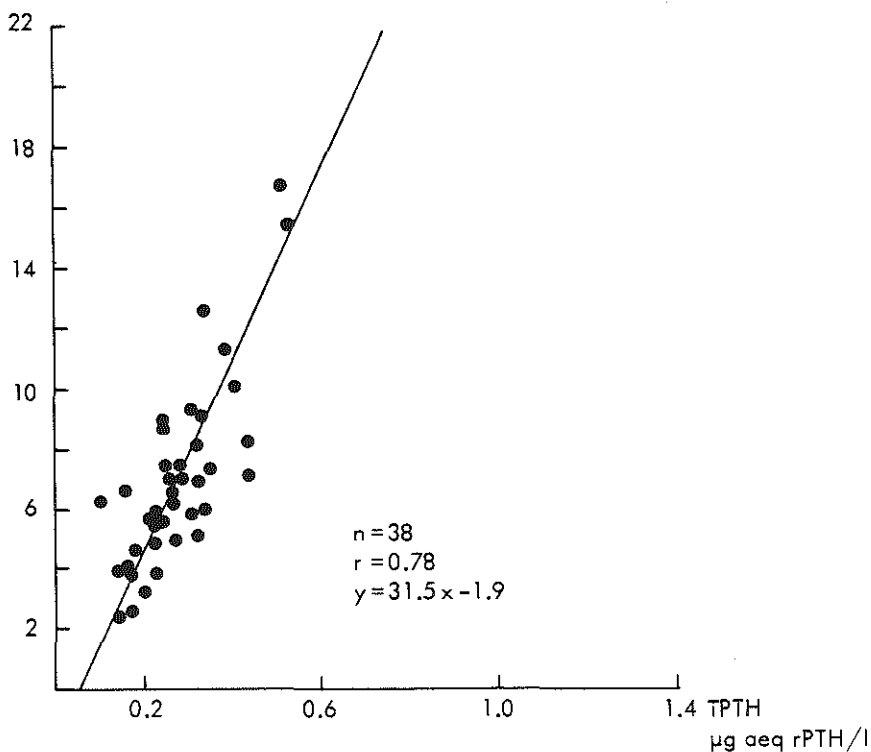
De relatie tussen het TPTH en de cAMP excretie tijdens de EDTA infusietest bij de patiënten met een niersteenlijden. Bij ieder van de 11 patiënten werden beide parameters bepaald tijdens het controleuur, het eerste en het tweede infusie uur.



Figuur 7.5

De relatie tussen het TPTH en de cAMP excretie tijdens de EDTA infusietest bij PHP. Bij ieder van de 14 patiënten werden beide parameters bepaald tijdens het controleuur, het eerste en het tweede infusie uur.

cAMP excr.
nmol/100 cc GF



Figuur 7.6

De relatie tussen het TPTH en de cAMP excretie tijdens de EDTA infusietest bij de patiënten met vitamine D deficiëntie. Bij ieder van de 13 patiënten werden beide parameters bepaald tijdens het controleuur, het eerste en het tweede infusie uur.

7.3.5 De relatie tussen de $\Delta \bar{iPTH}$ en de $\Delta cAMP$ excretie

Bij de patiënten met een niersteenlijden waren de veranderingen in het \bar{iPTH} en de $cAMP$ excretie tijdens de test relatief gering; binnen deze groep werd geen correlatie tussen de $\Delta \bar{iPTH}$ en de $\Delta cAMP$ excretie gevonden. Zowel bij de patiënten met PHP als bij de patiënten met vitamine D deficiëntie bleek een direct verband aantoonbaar tussen de $\Delta \bar{iPTH}$ en de $\Delta cAMP$ excretie (figuur 7.7 en 7.8). Vergelijkt men echter de per groep gevonden samenhang, dan valt het verschil in regressiecoëfficiënt op; bij de patiënten met vitamine D deficiëntie werd per eenheid \bar{iPTH} verandering een veel grotere stijging gezien in de $cAMP$ excretie.

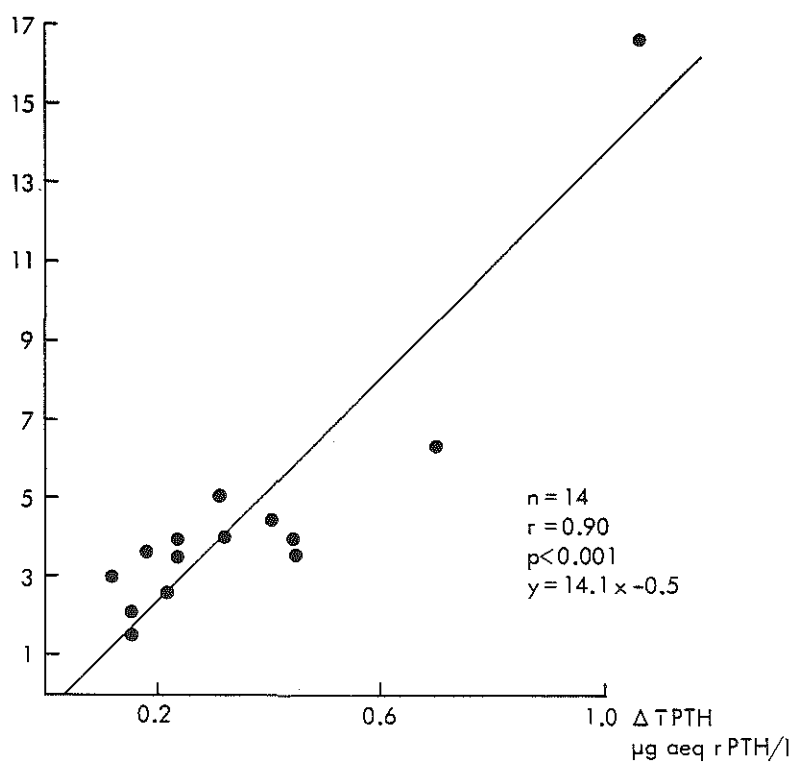
7.3.6 De PTH sensitiviteitsindex

De waarden van de PTH sensitiviteitsindex (de verandering in de $cAMP$ excretie per eenheid $iPTH$ verandering), berekend uit de gevonden waarden van het $iPTH$ en de $cAMP$ excretie tijdens het tweede infusie-uur en het controleuur zijn samengevat in tabel VII.7 en figuur 7.9. Deze index bleek bij de patiënten met vitamine D deficiëntie significant groter dan bij de patiënten met PHP ($32,1 \pm 17,7$ respectievelijk $13,8 \pm 4,9$; $p < 0,001$) en de patiënten met een niersteenlijden ($32,1 \pm 17,7$ respectievelijk $16,7 \pm 10,3$; $p < 0,02$).

De sensitiviteitsindex van de patiënten met PHP was niet duidelijk verschillend van die van de patiënten met een niersteenlijden. Ook indien bij de patiënten met vitamine D deficiëntie de patiënt met de veruit hoogste indexwaarde (patiënt 11) buiten beschouwing gelaten werd, bleven de gevonden verschillen tussen de patiënten met vitamine D deficiëntie enerzijds en de patiënten met PHP en een niersteenlijden anderzijds statistisch significant ($p < 0,001$ respectievelijk $p < 0,01$).

Ook indien een sensitiviteitsindex berekend werd op basis van de veranderingen in \bar{iPTH} en $cAMP$ excretie die optraden in het eerste infusie-uur ten opzichte van het controleuur, bleek deze bij de patiënten met vitamine D deficiëntie significant groter dan bij de patiënten met PHP (tabel VII.8;

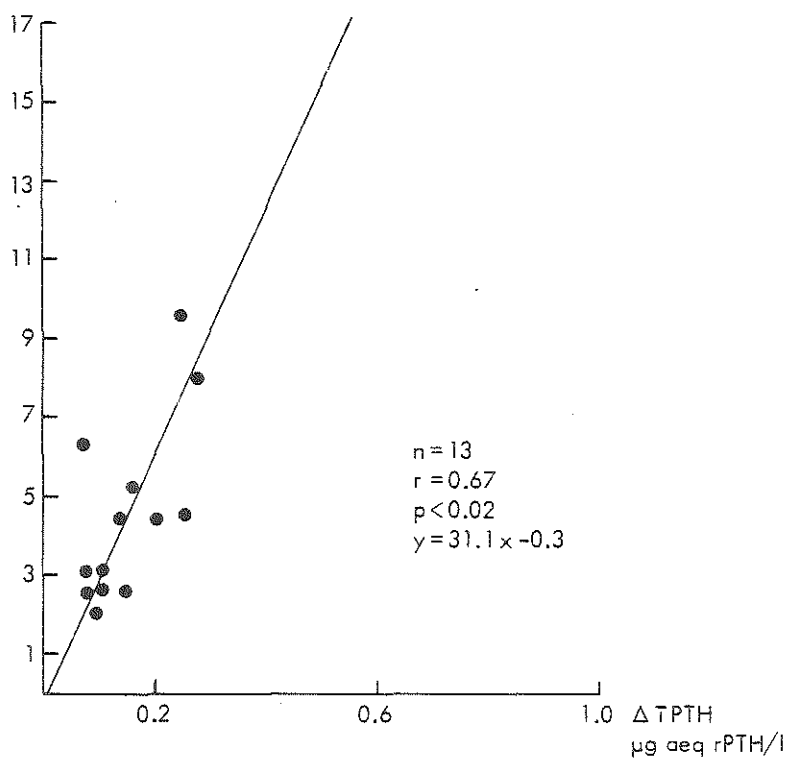
Δ cAMP excr.
nmol/100cc GF



Figuur 7.7

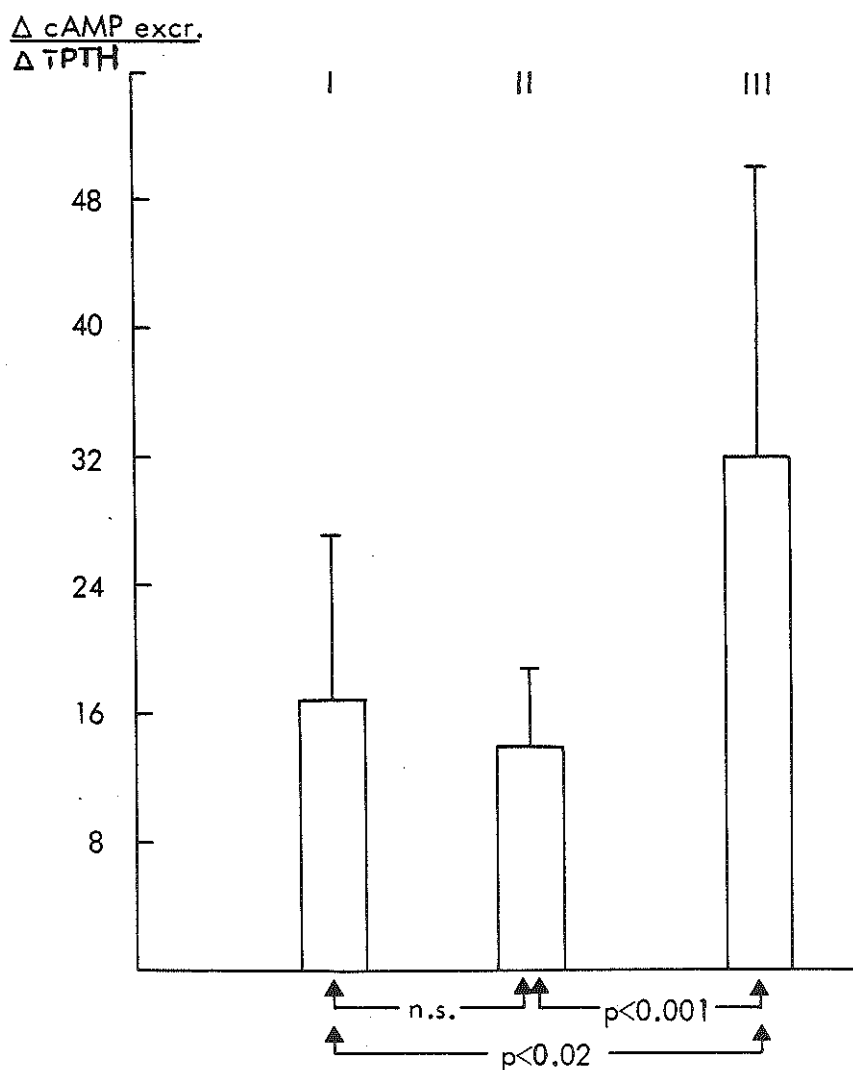
Het verband tussen de Δ TPH en de Δ cAMP excretie bij de patiënten met PHP.

Δ cAMP excr.
nmol/100 cc GF



Figuur 7.8

Het verband tussen de Δ TPTH en de Δ cAMP excretie bij de patiënten met vitamine D deficiëntie.



Figuur 7.9

De PTH sensitiviteitsindex (gemiddelde \pm SD) bij de patiënten met een niersteenlijden (I), PHP (II) en de patiënten met vitamine D deficiëntie (III).

	A: Niersteenpatiënten			B: Patiënten met PHP			C: Patiënten met Vit D Def.		
	Δ PTH	Δ cAMP excretie	PTH-sens index	Δ PTH	Δ cAMP excretie	PTH-sens index	Δ PTH	Δ cAMP excretie	PTH-sens index
1	0,120	1,26	10,5	0,180	3,61	20,1	0,258	4,56	17,7
2	0,088	1,00	11,4	0,155	2,11	13,6	0,097	2,07	21,3
3	0,075	2,18	29,1	0,117	3,01	25,7	0,110	3,16	28,7
4	0,080	2,80	35,0	0,323	4,00	12,4	0,163	5,29	32,5
5	0,098	0,82	8,4	0,218	2,57	11,8	0,083	2,56	30,8
6	0,125	0,44	3,5	0,237	3,92	16,5	0,278	7,96	28,6
7	0,085	1,56	18,4	0,405	4,40	10,9	0,105	2,64	25,1
8	0,115	3,49	30,3	0,155	1,54	9,9	0,080	3,06	38,3
9	0,160	1,52	9,5	0,450	3,56	7,9	0,147	2,61	17,8
10	0,077	0,95	12,3	0,697	6,28	9,0	0,257	9,64	37,5
11	0,095	1,49	15,7	0,447	3,93	8,8	0,073	6,32	86,6
12	-	-	-	0,237	3,48	14,7	0,210	4,47	21,3
13	-	-	-	1,070	16,57	15,5	0,145	4,46	30,8
14	-	-	-	0,312	4,95	15,9	-	-	-
Gem.	0,102	1,59	16,7	0,357	4,57	13,8	0,154	4,52	32,1
SD	0,026	0,91	10,3	0,258	3,65	4,9	0,073	2,29	17,7

Δ PTH	p < 0,01	p < 0,02	p < 0,05
Δ cAMP-excretie	p < 0,02	n.s.	p < 0,001
PTH sensitiviteitsindex	n.s.	p < 0,001	p < 0,02

Tabel VII.7

De Δ PTH (g aeq rPTH/l), de Δ cAMP-excretie (nmol/100 cc GF) en de PTH sensitiviteitsindex bij de verschillende patiëntengroepen.

A: Patiënten met PHP				B: Patiënten met Vit D Def.			
	Δ iPTH	Δ cAMP excretie	PTH-sens index		Δ cAMP excretie	PTH-sens index	
1	0,120	1,60	13,3	0,158	3,40	21,5	
2	0,088	0,15	1,7	0,053	2,59	48,9	
3	0,067	1,01	15,1	0,067	1,88	28,1	
4	0,237	1,75	7,4	0,097	5,02	51,8	
5	0,105	1,90	18,1	0,027	0,97	-	
6	0,130	1,74	13,4	0,155	2,67	17,2	
7	0,165	1,64	9,9	0,072	1,74	24,2	
8	0,145	0,35	2,4	0,013	1,55	-	
9	0,230	0,00	0	0,063	0,35	5,6	
10	0,370	2,06	5,6	0,123	4,30	35,0	
11	0,183	2,33	12,7	0,083	1,09	13,1	
12	0,093	0,97	10,4	0,097	1,27	13,1	
13	0,277	4,63	16,7	0,042	1,28	30,5	
14	0,105	2,23	21,2	-	-	-	
Gem.	0,165	1,60	10,6	0,081	2,16	26,3	
SD	0,086	1,16	6,5	0,045	1,38	14,7	

B vs C

Δ iPTH	p < 0,02
Δ cAMP excretie	n.s.
PTH sens.index	p < 0,01

Tabel VII.8

De stijging in het iPTH en de cAMP-excretie (eerste infusieusur vs controleusur) en de PTH sensitiviteitsindex, berekend op basis van de veranderingen tijdens het eerste infusieusur, bij de patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie. Voor de patiënten 5 en 8 uit groep B werd geen sensitiviteitsindex berekend omdat de stijging in het iPTH bij beide patiënten nihil ($0,03 \mu$ aeq rPTH/l) was.

figuur 7.10.: sensitiviteitsindex bij de patiënten met vitamine D deficiëntie $26,3 \pm 14,7$; bij de patiënten met PHP: $10,6 \pm 6,5$; $p < 0,01$). Omdat de iPTH stijging tijdens het eerste infusie uur bij een aantal patiënten met niersteenlijden nihil was, werd voor deze groep geen sensitiviteitsindex voor het eerste uur berekend.

7.3.7 De relatie tussen het basale iPTH en de sensitiviteitsindex bij PHP.

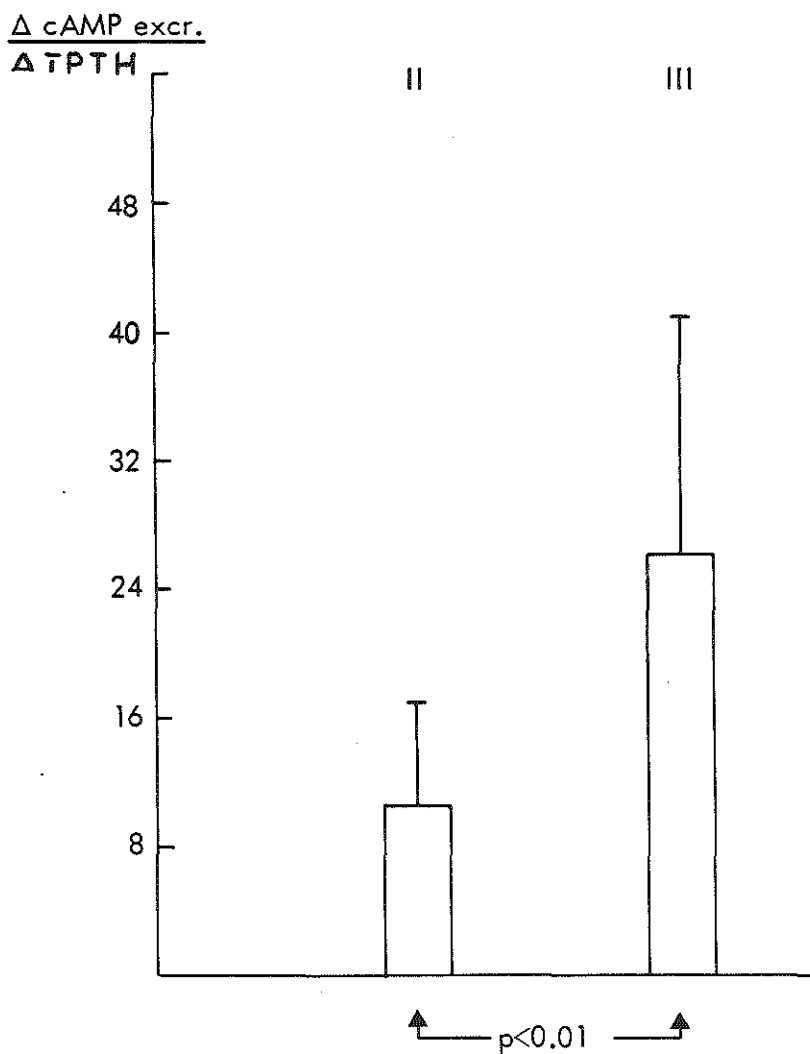
Nagegaan werd, of er binnen de groep patiënten met PHP een verband aantoonbaar was tussen het iPTH tijdens het controle uur en de sensitiviteitsindex. De resultaten zijn samengevat in figuur 7.11.: er bleek geen significante correlatie tussen beide parameters aantoonbaar.

7.3.8 De relatie tussen de basale serumcalciumconcentratie en de sensitiviteitsindex bij PHP.

Nagegaan werd, of er binnen de groep patiënten met PHP een verband aantoonbaar was tussen de serumcalciumconcentratie tijdens het controle uur (gemiddelde waarden van t-60 en t 0) en de sensitiviteitsindex. De resultaten zijn samengevat in figuur 7.12.: er bleek geen significante correlatie tussen de beide parameters te bestaan.

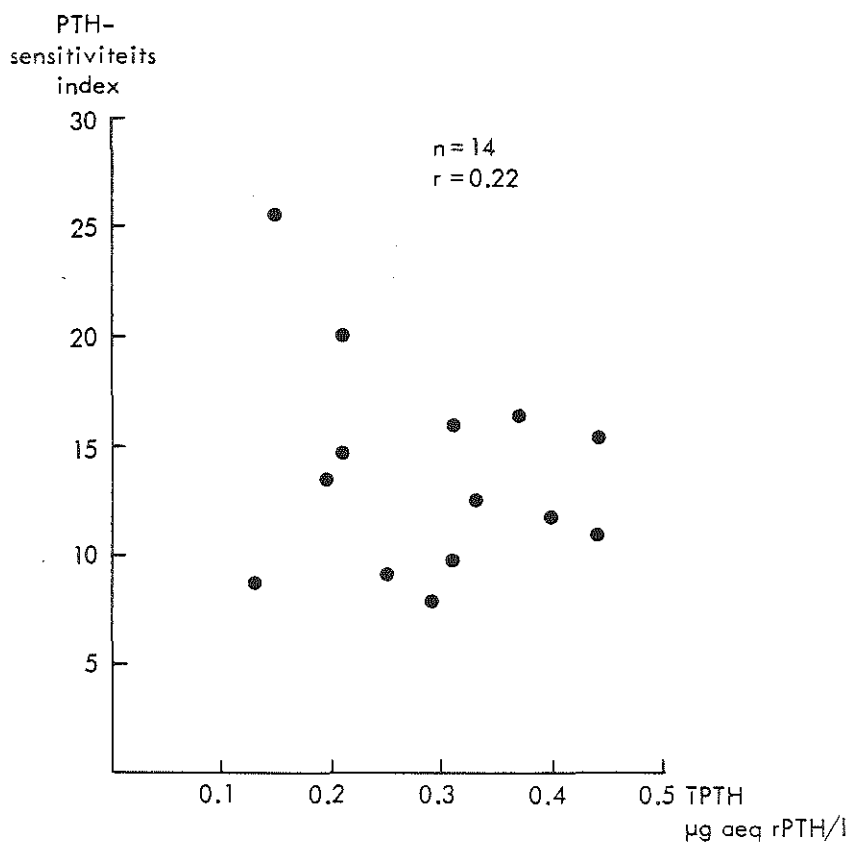
7.3.9 De plasma cAMP concentratie tijdens de EDTA infusie-test.

Bij 16 patiënten (8 patiënten met PHP en 8 patiënten met vitamine D deficiëntie) werd op t 0 en t 120 een bloedmonster afgenomen waarin de concentratie cAMP werd bepaald. Op t 0 bedroeg de cAMP concentratie bij deze patiënten (gemiddelde \pm SD) $1,57 \pm 0,40$ nmol/100 cc; op t 120 $1,86 \pm 0,46$ nmol/100 cc; het verschil was statistisch significant ($p < 0,05$). Het gemiddelde verschil tussen de plasma cAMP concentratie op t 120 en t 0 bedroeg $0,29 \pm 0,46$ nmol/100 cc. Bij deze 18 patiënten bedroeg de Δ cAMP excretie $4,76 \pm 3,43$ nmol/100 cc GF, zodat de stijging in de cAMP excretie bij deze patiënten voor gemiddeld 94% een gevolg was van een toename van de nefrogene cAMP productie (tabel VII.9.).



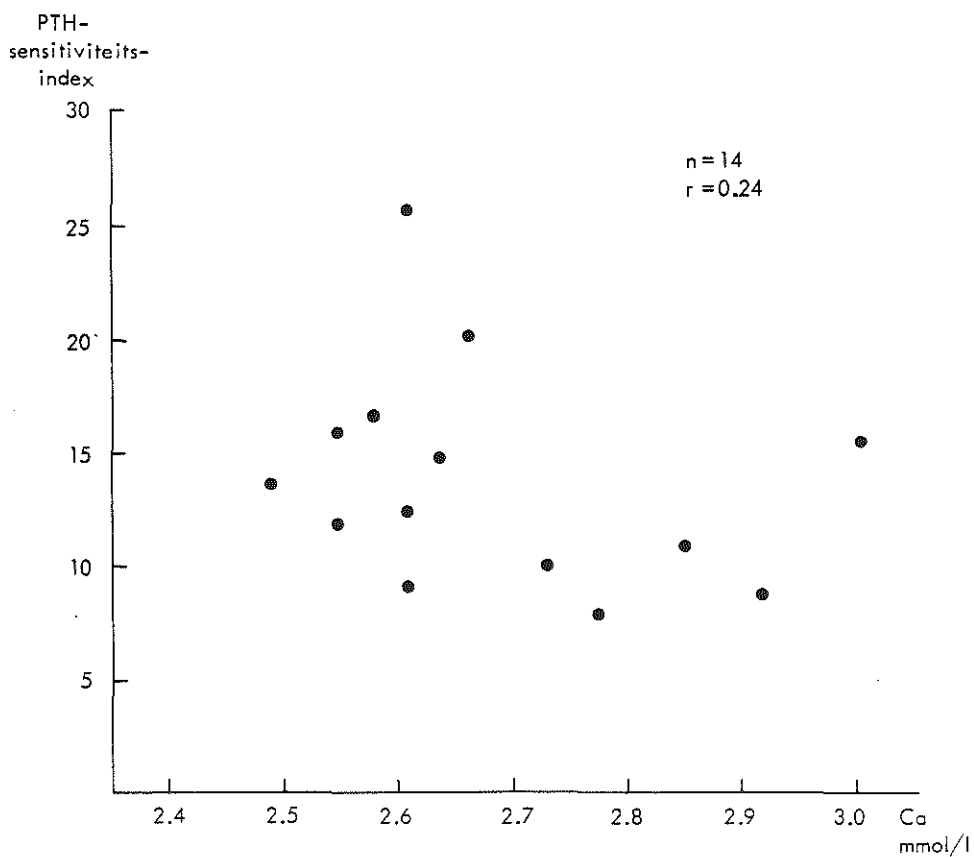
Figuur 7.10

De PTH sensitiviteitsindex, berekend op basis van de veranderingen in het eerste infusie uur, bij de patiënten met PHP (II) en vitamine D deficiëntie (III).



Figuur 7.11

Het TPTH tijdens het controleuur vs de PTH sensitiviteits-index bij de patiënten met PHP.



Figuur 7.12

De basale serumcalciumconcentratie (gemiddelde waarden van t-60 en t0) vs de PTH sensitiviteitsindex bij de patiënten met PHP.

	controleuur			tweede infusie uur			Δ cAMP excretie	Δ PcAMP	Δ NcAMP
	cAMP excretie	PcAMP	NcAMP	cAMP excretie	PcAMP	NcAMP			
1	4,19	2,02	2,17	6,76	1,76	5,00	2,57	-0,26	2,83
2	5,29	1,77	3,52	9,21	2,07	7,14	3,92	0,30	3,62
3	4,64	1,87	2,77	9,04	1,53	7,51	4,40	-0,34	4,74
4	3,90	1,84	2,06	5,44	1,86	3,58	1,54	0,02	1,52
5	4,24	2,03	2,21	10,52	1,94	8,58	6,28	-0,09	6,37
6	6,59	1,42	5,17	10,52	2,04	8,48	3,93	0,62	3,31
7	5,47	1,18	4,29	22,04	1,95	20,09	16,57	0,77	15,80
8	4,98	1,26	3,72	9,93	1,50	8,43	4,95	0,24	4,71
9	3,81	1,95	1,86	6,97	1,94	5,03	3,16	-0,01	3,17
10	3,97	1,83	2,14	9,26	2,17	7,09	5,29	0,34	4,95
11	3,19	1,26	1,93	5,83	1,65	4,18	2,64	0,39	2,25
12	2,43	2,14	0,29	5,49	2,59	2,90	3,06	0,45	2,61
13	6,25	1,05	5,20	8,86	1,05	7,81	2,61	0	2,61
14	6,23	0,90	5,33	12,55	1,01	11,54	6,32	0,11	6,21
15	3,80	1,15	2,65	8,27	2,69	5,58	4,47	1,54	2,93
16	4,59	1,52	3,07	9,05	2,07	6,98	4,46	0,55	3,91
Gem.	4,60	1,57	3,02	9,36	1,86	7,50	4,76	0,29	4,47
SD	1,15	0,40	1,42	3,92	0,46	4,02	3,43	0,46	3,32

Tabel VII.9

De toename van de totale cAMP excretie (Δ cAMP excretie; nmol/100 cc GF), de toename van de plasma cAMP concentratie (Δ PcAMP; nmol/100 cc) en de toename van de nefrogene cAMP excretie (Δ NcAMP; nmol/100 cc GF) tijdens de EDTA infusietest (tweede infusie uur vs controleur) bij 16 patiënten.

7.4 Bespreking

7.4.1 De bruikbaarheid van het model

Eerder in de literatuur vermeld onderzoek naar de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij verschillende groepen proefpersonen werd uitgevoerd met behulp van infusie van (meestal bovine) PTH. De interpretatie van de resultaten van deze studies wordt ons inziens bemoeilijkt door een aantal factoren:

- a) de gehanteerde dosering PTH was veelal van een farmacologische omvang, zodat eerder een maximale responsiecapaciteit werd onderzocht dan een sensitiviteit;
- b) de verdelingsruimte en de katabolische snelheid van exogeen PTH zijn wellicht bij verschillende groepen proefpersonen ongelijk;
- c) de cAMP excretie in de urine werd veelal niet gecorrigeerd op de niermassa, hetgeen bij vergelijking van groepen op theoretische gronden onjuist is (zie 2.4).

Met het door ons ontwikkelde model werden fluctuaties in de cAMP excretie onderzocht bij iPTH veranderingen die niet uitgingen boven een niveau van 300% van de uitgangswaarde en die reacties opwekten ver onder de maximale responsiecapaciteit van de nier. De directe iPTH metingen maken het mogelijk een indruk te krijgen over de mate waarin de nierreceptoren worden gestimuleerd onafhankelijk van verdelingsruimte en verdwijningssnelheid van het hormoon. Verder werd wel de noodzakelijke correctie op de functionerende niermassa toegepast.

Aangetoond kon worden, dat de tijdens de test waargenomen toename van de cAMP excretie slechts voor een verwaarloosbaar deel een gevolg was van een stijging in de gefiltreerde fractie (7.3.9) en dienvolge vrijwel geheel een gevolg is van een toename van de nefrogene cAMP excretie.

Bij de patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie bleek een nauwe lineaire samenhang tussen de tijdens de test (controleur, eerste en tweede infusieur) gevonden waarden van het iPTH en de cAMP excretie in de urine te bestaan, zoals blijkt uit figuur 7.5 en 7.6.

Bij beide groepen kon worden aangetoond dat ook tussen de door EDTA infusie opgewekte veranderingen in het \bar{i} PTH en de cAMP excretie in de urine een zeer nauwe betrekking bestaat (figuur 7.7 en 7.8). Deze gegevens duiden erop dat het gebruikte onderzoeksmodel geschikt kan worden geacht om bij patiënten met primaire en secundaire hyperparathyreoidie de relatie tussen het renale adenylcyclasesysteem en i PTH veranderingen te bestuderen.

De nauwe betrekking tussen de opgewekte stijgingen in het \bar{i} PTH en de cAMP excretie in de urine rechtvaardigt het gebruik van de PTH-sensitiviteitsindex. Deze index geeft de verandering in de cAMP excretie (nmol/100 cc GF) per eenheid i PTH verandering (μ g aeq r PTH/l) weer en vormt een bruikbare kwantitatieve maat om in vivo de PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem binnen en tussen verschillende groepen proefpersonen te definiëren respectievelijk te vergelijken.

7.4.2 De controlegroep

Omdat het niet mogelijk was een voldoende aantal EDTA testen uit te voeren bij gezonden, fungeerden een groep patiënten met een niersteenlijden in ons onderzoek als controlegroep. Bij deze groep patiënten bestond een zwakkere correlatie tussen het \bar{i} PTH en de cAMP excretie dan bij de patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie (figuur 7.4). De totale cAMP excretie was echter bij deze groep patiënten zowel tijdens het controleuur, het eerste en het tweede infusie uur aanzienlijk lager dan bij de beide andere patiëntengroepen; verschillen in de hoeveelheid gefiltreerd cAMP tussen de verschillende proefpersonen bepalen dan in relatief grote mate de uitkomst van de totale cAMP excretie.

Tussen de $\Delta\bar{i}$ PTH en de Δ cAMP excretie kon in deze groep patiënten geen duidelijke correlatie worden aangetoond waarschijnlijk omdat bij de relatief kleine veranderingen in beide parameters bij deze groep patiënten normale laboratoriumvariaties een grotere rol gaan spelen. Wel kon een indruk over de PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem worden verkregen door voor de groep patiënten als geheel de PTH sensitiviteitsindex te berekenen.

7.4.3 De PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij PHP.

De vraag of bij PHP de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor iPTH veranderingen is veranderd, wordt in de literatuur controversieel beantwoord. Von Lilienfeld-Toal e.a. (1974, 1978) vonden bij een groep patiënten met PHP een verminderde toename van de cAMP excretie in de urine na toediening van 100 E bovine PTH vergeleken met een groep gezonden. Tomlinson e.a. (1975) en Aida e.a. (1975) kwamen bij gebruik van een gelijke proefopstelling, waarbij echter 200 E bovine PTH werd geïnfundeed, tot eenzelfde conclusie. De onderzochte patiëntenpopulatie was bij alle genoemde studies klein; de cAMP excretie werd steeds uitgedrukt in nmol per tijdseenheid.

In tegenstelling tot de genoemde auteurs vonden Tucci e.a. (1979) geen verschil tussen de door toediening van 200 E bovine PTH opgewekte stijgingen in de cAMP excretie (mol/g kreat) bij 12 gezonden, 21 patiënten met PHP en 12 patiënten met hypoparathyreoïdie. Op de bezwaren verbonden aan de bij de genoemde studies gehanteerde onderzoeksmethodiek werd reeds eerder ingegaan (7.4.1).

Indien bij PHP de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor iPTH veranderingen is afgenomen, zou men verwachten dat de PTH gevoeligheid afneemt bij een toenemende ernst van de hyperparathyreoïdie. Er was echter bij onze patiënten geen verband aantoonbaar tussen het basale iPTH en de basale serumcalciumconcentratie enerzijds en de PTH sensitiviteitsindex anderzijds (figuur 7.11 en 7.12). Verder verschilde de PTH sensitiviteitsindex van de patiënten met PHP niet duidelijk van die der niersteenpatiënten (figuur 7.9). Ons onderzoek leverde derhalve geen argumenten op voor het bestaan van een verminderde PTH gevoeligheid van de nierreceptoren bij patiënten met PHP.

7.4.4 De PTH gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem bij vitamine D deficiëntie

In de literatuur werd melding gemaakt van een toegenomen cAMP excretie bij rachitische kinderen (Vainsel e.a. 1976; Sovik e.a. 1976), osteomalacie (Schmidt-Gayk e.a. 1977) en patiënten met gastrointestinale aandoeningen, mogelijk gecompliceerd door vitamine D deficiëntie (Von Lilienfeld-Toal e.a. 1978). De verhoogde cAMP excretie werd door deze auteurs echter uitsluitend toegeschreven aan de verhoogde PTH secretie, terwijl het bestaan van een buitensporig verhoogde cAMP excretie ten opzichte van de bij schildklieractiviteit niet werd overwogen. Sisson en Tucci (1980) beschreven één patiënt met vitamine D deficiëntie bij wie de cAMP excretie in de urine zeer sterk verhoogd was ondanks een slechts licht verhoogd iPTH.

Forte e.a. (1976) verrichtten PTH-infusiestudies bij ratten waarbij de bij schildklieren verwijderd waren en die gedurende langere tijd opgesloten waren in een donkere ruimte en vitamine D deficiënt voedsel toegediend kregen. De toename van de cAMP excretie was bij gebruik van verschillende hoeveelheden geïnfundeerd PTH steeds kleiner dan bij een groep controleratten. Bovendien bleek ook in vitro het renale adenylcyclase afkomstig van de vitamine D deficiënte ratten verminderd stimuleerbaar. Over de resultaten van PTH infusiestudies bij menselijke proefpersonen met vitamine D deficiëntie zijn slechts sporadisch gegevens bekend. Sisson en Tucci (1980) vonden na toediening van bovine PTH bij een patiënt met vitamine D deficiëntie een sterkere stijging van de cAMP excretie in de urine dan bij een groep gezonden. Von Lilienfeld-Toal e.a. (1978) vonden bij 4 patiënten met gastrointestinale aandoeningen, welke mogelijk gecompliceerd werden door vitamine D deficiëntie, na toediening van bovine PTH een sterkere stijging van de cAMP excretie in de urine dan bij een groep gezonden en bij een groep patiënten met PHP.

Bij ons onderzoek bleek het iPTH tijdens het controle-uur bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie significant lager dan bij de groep patiënten met PHP; voor de cAMP excretie in de urine bleek echter het omgekeerde het geval (7.3.2).

De PTH sensitiviteitsindex bleek bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie significant groter dan bij de groep patiënten met PHP en de controlegroep (7.3.6). Deze resultaten duiden alle aan, dat in geval van vitamine D deficiëntie de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor PTH veranderingen toegenomen is.

7.4.5 Enkele hypothesen betreffende de oorzaak van de verschillende PTH gevoeligheid bij de onderzochte patiëntengroepen

Theoretisch zijn met de huidige inzichten in het werkingsmechanisme van membraamreceptoren een groot aantal mechanismen denkbaar waardoor de verschillen in PTH gevoeligheid tussen de verschillende patiëntengroepen verklaard zou kunnen worden (zie 2.1). Op grond van beschikbare literatuurgegevens lijken een aantal mogelijkheden bijzondere aandacht te verdienen.

Uit de literatuur is bekend, dat de gevoeligheid van receptorcellen voor veranderingen in hormoonconcentraties in grote mate samenhangt met het per cel beschikbare aantal bindingsplaatsen. Voor een aantal hormoon-receptorsystemen is aangetoond dat, indien de receptorcel voortdurend blootgesteld wordt aan hoge hormoonconcentraties, het aantal bindingsplaatsen per cel, en daarmee de gevoeligheid van de receptorcel voor de veranderingen in de hormoonconcentratie, afneemt en, bij voortdurende blootstelling aan lage hormoonconcentraties, toeneemt (Pollet e.a. 1980). Dit mechanisme zou kunnen verklaren waarom de PTH sensitiviteitsindex bij de groep patiënten met PHP lager was dan bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie, die immers een gemiddeld lagere basale serum $\overline{\text{PTH}}$ concentratie hadden (7.3.2). De PTH sensitiviteitsindex van de groep patiënten met PHP - de groep patiënten met de hoogste basale $\overline{\text{PTH}}$ concentratie - verschilde echter niet duidelijk van die der patiënten met een niersteenlijden - de groep patiënten met de laagste basale $\overline{\text{PTH}}$ concentratie - (figuur 7.9); verder werd binnen de groep patiënten met PHP geen duidelijk verband gevonden tussen de basale $\overline{\text{PTH}}$ concentratie en de PTH sensitiviteitsindex (figuur 7.11). Het genoemde mechanisme biedt dan ook geen verklaring voor onze onderzoeksresultaten.

In vitro zijn wel aanwijzingen gevonden dat de aanwezige calciumconcentraties de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor veranderingen in PTH concentratie beïnvloedt.

Zo bleek in gehomogeniseerd nierschorsweefsel afkomstig van de rat (Beck e.a. 1974) en het konijn (Streeto 1969) de PTH gestimuleerde adenylcyclaseactiviteit af te nemen bij incubatie met oplopende concentraties calcium in het medium. De betekenis van deze in vitro waarnemingen voor de situatie in vivo is echter nog niet duidelijk. Zo toonden Nagata en Rasmussen (1970) aan dat toevoeging van calcium in een dusdanige concentratie dat de PTH gestimuleerde adenylcyclaseactiviteit in gehomogeniseerde nier-tubuluscellen wordt geremd, deze invloed niet ver-toonde op de PTH gestimuleerde cAMP concentratie in geïsoleerde intacte tubuluscellen. Beck e.a. (1974) vonden bij ratten na verwijdering van de bij-schildklieren een verminderde stijging van de cAMP excretie na PTH toediening indien de dieren tevoren hypercalciaemisch gemaakt waren door middel van calciuminfusies. Popovtzer e.a. (1975) konden deze waarneming met een in vele opzichten identieke proefopstelling echter niet bevestigen. Indien in vivo de serumcalciumconcentratie bepalend zou zijn voor de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem, zou verklaard kunnen worden waarom de PTH sensitiviteitsindex bij de patiënten met vitamine D deficiëntie hoger was dan bij de beide andere groepen; de serumcalciumconcentratie was bij deze groep immers lager dan bij de beide andere patiëntengroepen (7.3.1). Ook dit mechanisme lijkt echter onze onderzoeksresultaten niet volledig te verklaren. Ondanks een significant hogere serumcalciumconcentratie was de sensitiviteitsindex bij de patiënten met PHP vrijwel gelijk aan die van de patiënten met een niersteenlijden (figuur 7.9; 7.3.6); verder was er binnen de groep patiënten met PHP geen duidelijk verband aantoonbaar tussen de serumcalciumconcentratie en de PTH sensitiviteitsindex (figuur 7.12).

Een volgende verklaring voor de toegenomen PTH gevoeligheid bij de patiënten met vitamine D deficiëntie zou kunnen zijn dat het 25 HCC of één van de andere vitamine D derivaten de PTH afhankelijke cAMP productie in de tubuluscellen remt.

Dit zou verklaren waarom de PTH-sensitiviteitsindex bij de patiënten met vitamine D deficiëntie zowel ten opzichte van de niersteenpatiënten als ten opzichte van de patiënten met PHP verhoogd was. Deze veronderstelling wordt ondersteund door de waarnemingen van Popovtzer en Robinette (1975) die vaststelden dat bij de rat de cAMP excretie (pmol/min) verminderde tijdens infusie van 25 HCC. Gezien de aanwezigheid van een intacte bijschildklierfunctie bestaat de mogelijkheid dat deze afname van de cAMP excretie veroorzaakt werd door suppressie van de PTH secretie. Ook bij ratten waarbij door parathyroidectomie de endogene bijschildklieractiviteit was uitgeschakeld (PTX ratten) en waarbij een constante hoeveelheid PTH werd geïnfundeed, bleek na toediening van 25 HCC de cAMP excretie te verminderen. Voor de waarnemingen van Popovtzer en Robinette in het rattenexperiment zowel als onze waarnemingen in het humane in vivo experiment lijken dan een aantal verklaringen mogelijk. Een eerste mogelijkheid is, dat de vitamine D metabolieten de binding tussen het PTH en zijn renale receptor beïnvloeden. Een tweede mogelijkheid is, dat de vitamine D metabolieten de activatie van het PTH gevoelige renale adenylcyclasesysteem remmen, hetzij op directe wijze, hetzij op indirecte wijze door beïnvloeding van één of meerdere van de vele schakels welke de mate van activering van het adenylcyclasesysteem bepalen (zie 2.1). Een derde mogelijkheid is, dat de vitamine D metabolieten de afbraak van het in de tubuluscellen gevormde cAMP stimuleren.

Omdat het effect van PTH op de tubulaire terugresorptie van fosfaat tot stand komt via een verhoging van de intracellulaire cAMP concentratie in de tubuluscellen (zie 3.1) lijkt het redelijk te veronderstellen dat, indien de laatste verklaring juist is, de vitamine D status mede van invloed is bij de mate, waarin veranderingen in de PTH secretie de tubulaire terugresorptie van fosfaat beïnvloeden. Ons proefmodel leende zich vanwege de multipale dynamische veranderingen in het fosfaatmetabolisme (zie hoofdstuk 8) niet voor bestudering van de invloed van iPTH veranderingen op de fosfaatterugresorptie. De rol van vitamine D bij de tubulaire terugresorptie van fosfaat is complex en voor een deel nog niet duidelijk.

Experimenten met PTX proefdieren maakten aannemelijk dat vitamine D een direct, PTH onafhankelijk, verhogend effect heeft op de tubulaire terugresorptie van fosfaat. Zo vonden Puschet e.a. (1972, 1974) na eenmalige toediening van 25 HCC bij PTX honden een vermindering van de fractionele fosfaatexcretie (fosfaatklaring: inulineklaring). Popovtzer e.a. (1974) zagen echter de fractionele fosfaatexcretie bij PTX ratten tijdens infusie van 25 HCC en 1,25 DHCC niet veranderen. De soms tegenstrijdige bevindingen in de literatuur worden mogelijk voor een deel verklaard door de onderzoeksresultaten van Bonjour e.a. (1977, 1978) die vaststelden dat 1,25 DHCC in staat is om bij PTX ratten het vermogen tot tubulaire aanpassing aan variaties in de fosfaattoevoer te herstellen; zo werd bij PTX-ratten die fosfaatrijke voeding toegediend kregen de tubulaire terugresorptie van fosfaat door 1,25 DHCC verlaagd en bij toediening van fosfaatarme voeding juist verhoogd. Volgens De Luca (1977) doet vitamine D de tubulaire terugresorptie van fosfaat afnemen bij een normale of verhoogde serumfosfaatconcentratie. Vitamine D beïnvloedt in vivo de tubulaire fosfaatterugresorptie ook op een tweede wijze namelijk door de effecten van het hormoon op het calciummetabolisme in de darm, het skelet en mogelijk ook de nieren waardoor de bijschildklierfunctie onderdrukt wordt (De Luca 1977); bovendien zijn er aanwijzingen dat diverse vitamine D metaboliëten de bijschildklierfunctie rechtstreeks beïnvloeden (Canterbury e.a. 1978). De waarnemingen van Popovtzer en Robinetti (1975) die vaststelden dat bij PTX ratten waarbij een constante hoeveelheid PTH werd geïnfundeed zowel de cAMP excretie als de fractionele fosfaatexcretie afnam na iv toediening van 25 HCC tesamen met de resultaten van ons eigen onderzoek suggereren het bestaan van een specifieke invloed van vitamine D op de interactie tussen PTH en de niertubuli. Deze invloed zou van dien aard zijn dat een normale vitamine D status een remmende werking heeft op de cAMP productie in de tubuluscel, waardoor de fosfaatreabsorptie bevorderd wordt. Bij een vitamine D deficiëntie zou de interactie tussen het PTH en het renale adenylcyclase versterkt zijn resulterend in een toegenomen cAMP excretie en fosfaturie.

Op deze wijze moduleert de vitamine D status de interactie tussen het PTH en één van zijn effector-systemen, een modulatie die gericht is op een efficiënter gebruik van het circulerend PTH door de nier.

7.5 Conclusies

Indien men bij een groep proefpersonen de iPTH concentratie in het bloed en de cAMP excretie in de urine voor en tijdens een EDTA infusieproef, verricht volgens het door ons gebruikte protocol, bepaalt, vormt het quotiënt van de stijging van de cAMP excretie in de urine en de iPTH concentratie in het bloed (de PTH sensitiviteitsindex) een bruikbare maat voor de gevoeligheid van de nier van het endogene PTH. Deze gevoeligheid is bij patiënten met vitamine D deficiëntie groter dan bij patiënten met PHP of een niersteenlijden. Mogelijk hangt dit verschil in de eerste plaats samen met verschillen in de vitamine D status. De resultaten van ons onderzoek leverden geen argumenten op voor het bestaan van een afgenomen PTH gevoeligheid bij patiënten met PHP, zoals door anderen wel is gesuggereerd.

8. DE VERANDERINGEN IN DE CALCIUM EN FOSFAAT CONCENTRATIE IN HET BLOED TIJDENS EDTA INFUSIE

8.1 Inleiding

Tijdens de EDTA infusie-test, zoals die in ons onderzoek werd uitgevoerd, werd in 2 uur tijd 250 mg EDTA per liter extracellulair volume (EVC) toegediend. Deze hoeveelheid bindt zich met 0,7 mmol calcium (Parfitt 1969), waardoor de concentratie van calcium in het serum bij de gebruikte meetmethode (ongegeleerd calcium) met deze grootte zou moeten afnemen, indien niet tegelijkertijd een zekere mate van buffering plaats zou vinden door mobilisatie van calcium vanuit het skelet. Door dit laatste mechanisme weerspiegelt het beloop van serumcalciumconcentratie tijdens EDTA infusie de mate waarin de calciumontrekking door EDTA uit de extracellulaire vloeistof wordt gebufferd vanuit een snel mobiliseerbare reservepool. Een aantal onderzoekers beschreven dit beloop bij patiënten met PHP, normalen en patiënten met hypoparathyreoïdie (Lockeffer e.a. 1974; Burckhard e.a. 1980; Klotz e.a. 1963; Parfitt 1969).

Een vergelijkend onderzoek tussen patiënten met PHP en vitamine D-deficiëntie voor wat betreft de daling van de serumcalciumconcentratie tijdens EDTA infusie werd niet eerder beschreven. Over de veranderingen van de fosfaatconcentratie tijdens EDTA infusie zijn slechts schaarse gegevens bekend. De in hoofdstuk 7 beschreven patiëntengroepen (11 patiënten met euparathyreoïd niersteenlijden, 14 patiënten met een PHP en 13 patiënten met een vitamine D-deficiëntie) werden derhalve vergeleken wat betreft het beloop van de serumcalcium en fosfaatconcentratie tijdens de EDTA infusie-test.

8.2 Methoden

De EDTA test werd steeds in nuchtere toestand en liggende houding uitgevoerd. Tussen 10.00 uur (t_0) en 12.00 (t_{120}) werd via een infusiepompje 50 mg/kg EDTA, opgelost in 53 cc glucose 5% toegediend terwijl tegelijkertijd 30 cc novocaine 2% via een zijinfuus werd geïnfundeerd. Bij de patiënten met vitamine D deficiëntie werd direct na de EDTA infusie (om 12.00 uur) intraveneus calciumgluconaat toegediend, waarop de test als beëindigd werd beschouwd; bij anderen groepen werd het spontane verloop van de herstelfase tot 14.00 uur gevolgd.

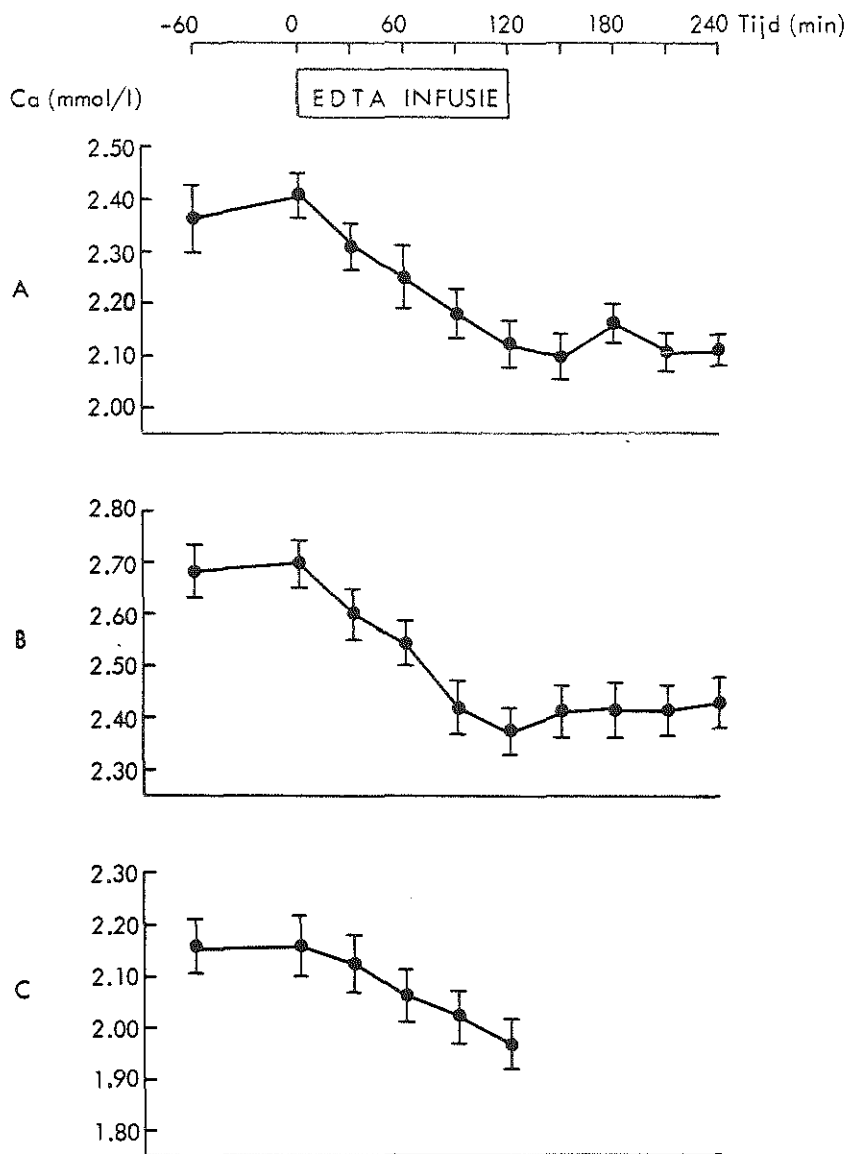
Bij alle proefpersonen werd tussen 8.00 en 9.00 uur 500 cc, tussen 9.00 en 10.00 uur 250cc en tussen 10.00 en 12.00 uur en (bij patiënten met PHP en een niersteenlijden) 12.00 en 14.00 uur 500 cc glucose 5% geïnfundeerd, terwijl bovendien om 9.00 uur en hierna ieder heel uur, 250 cc aquadest per os werd toegediend.

Om 9.00 en 10.00 uur en vervolgens iedere 30 minuten (tot 14.00 uur) werden bloedmonsters afgenomen waarin de concentraties calcium en fosfaat werden bepaald. Bij 11 en 15 patiënten, afkomstig uit de verschillende patiëntengroepen werd bovendien iedere 60 minuten bloed afgenomen voor het bepalen van de concentraties totaal eiwit respectievelijk geïoniseerd calcium (calcium $^{++}$).

8.3 Resultaten

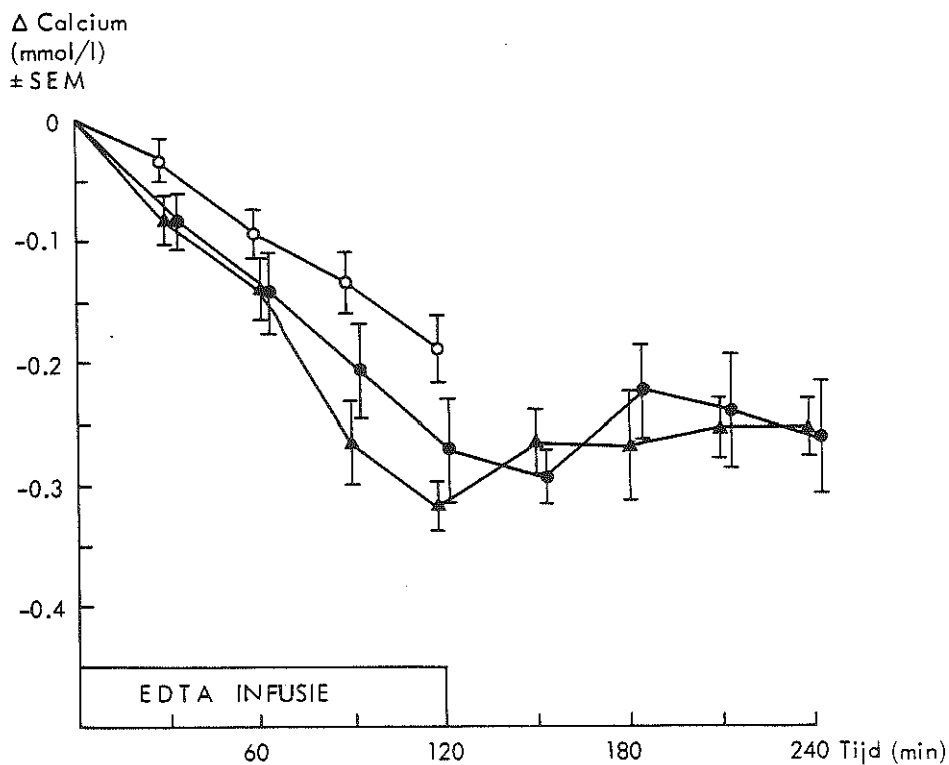
In ieder der onderzochte patiëntengroepen daalde de serumcalciumconcentratie tijdens de EDTA infusie t.o.v. de waarde, gevonden tijdens de controleperiode (berekend als de gemiddelde waarde van de concentraties op t 60 en t0) (tabel VII.4-VII.6; figuur 8.1). De mate waarin de serumcalciumconcentratie daalde (Δ Ca) bleek echter voor de verschillende patiëntengroepen te verschillen (figuur 8.2; tabel VIII.1). De Δ Ca bij de groep patiënten met PHP was op elk tijdstip met uitzondering van t 60 significant groter dan bij de groep patiënten met vitamine D-deficiëntie. Op de verschillende tijdstippen bedroeg de Δ Ca bij de groep patiënten met vitamine D-deficiëntie gemiddeld 55% van de waarde gevonden bij de groep patiënten met PHP. De euparathyreoïde niersteenpatiënten hadden een Δ Ca in dezelfde orde van grootte als de patiënten met PHP. Dit gold ook voor de periode t 120 - t 240. Er was evenwel op diverse tijdstippen geen significant verschil in Δ Ca tussen deze groep en de groep patiënten met vitamine D-deficiëntie, hetgeen wellicht een gevolg is van het kleinere aantal individuen in de niersteengroep.

Bij de 11 patiënten, bij wie tevens de concentratie geïoniseerd calcium in het bloed bepaald werd, werd de gemiddelde daling van het geïoniseerd calcium (de Δ Ca $^{++}$) op de verschillende tijdstippen vergeleken met de gemiddelde daling van het ongecheleerde calcium (de Δ Ca; figuur 8.3).



Figuur 8.1

De calciumconcentratie in het bloed (mmol/l; gemiddelde \pm SEM) tijdens de EDTA infusietest bij patiënten met een niersteenlijden (A; n = 11), primaire hyperparathyreodie (B; n = 14) en vitamine D deficiëntie (C; n = 13).



Figuur 8.2

De tijdens EDTA infusie bij de patiënten met een niersteenlijden (●—●), PHP (▲—▲) en vitamine D deficiëntie (○—○). De Δ ca geeft op de diverse tijdstippen het gemiddeld verschil (\pm SEM) in gevonden waarden t.o.v. de controlewaarde (gemiddelde van de waarden gevonden op t-60 en t 0) weer.

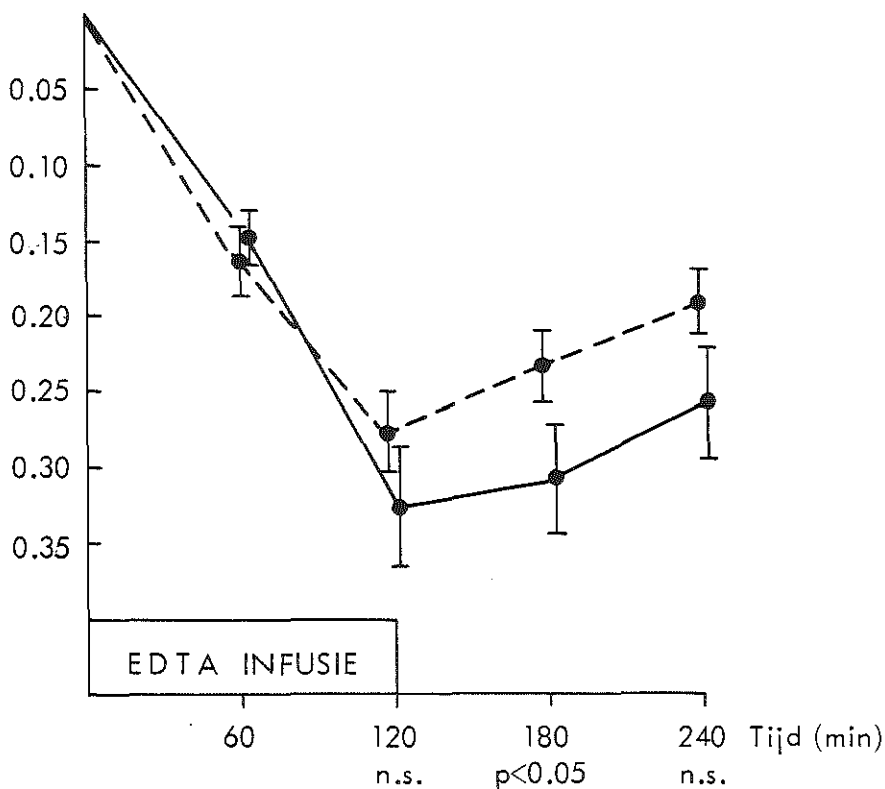
	Niersteen- patiënten	patiënten met PHP	patiënten met vit. D def.
t 30	-0,085±0,076	-0,089±0,057	-0,032±0,064 ^x
t 60	-0,139±0,118	-0,145±0,083	-0,094±0,077
t 90	-0,206±0,119	-0,266±0,118	-0,135±0,089 ^{xx}
t120	-0,272±0,141	-0,313±0,070	-0,188±0,100 ^{xxx}
t150	-0,292±0,093	-0,272±0,088	
t180	-0,224±0,107	-0,269±0,136	
t210	-0,238±0,129	-0,256±0,081	
t240	-0,260±0,138	-0,256±0,086	

Tabel VIII.1

Het verloop van de Δ ca tijdens EDTA infusie bij patiënten met een niersteenlijden (n=11), patiënten met PHP (n=14) en patiënten met vitamine D deficiëntie (n=13).

x=p < 0,05; xx=p < 0,01; xxx=p < 0,001 ten opzichte van patiënten met PHP.

$\Delta Ca / \Delta Ca^{++}$
mmol/l



Figuur 8.3

De Δca (—) en de Δca^{++} (- - -) bij 11 patiënten tijdens de EDTA infusietest. De Δca resp. Δca^{++} geeft op de verschillende tijdstippen het gemiddeld verschil (\pm SEM) in gevonden waarden t.o.v. de controlewaarde (gemiddelde van de waarden gevonden op t-60 en t 0) weer.

Op de t 120, t 180 en t 240 bleek de gemiddelde Δ Ca groter dan de gemiddelde Δ Ca $^{++}$; het verschil was echter alleen op t 180 significant ($p < 0,05$).

De gemiddelde concentratie van het totale eiwit in het bloed, bepaald bij 15 patiënten, bleef tussen t 60 en t 120 constant (tabel VIII.2).

Het gemiddelde van de serumfosfaatconcentratie daalde in het verloop van de test bij ieder der 3 groepen (figuur 8.4). In iedere groep was de serumfosfaatconcentratie op t 0 lager dan op t-60; dit verschil was voor de groep patiënten met vitamine D-deficiëntie en de groep patiënten met een niersteenlijden significant (vitamine D-deficiëntie: t-60: $1,06 \pm 0,22$ mmol/l, t 0 : $0,99 \pm 0,23$ mmol/l, $p < 0,05$; niersteenpatiënten: t-60: $0,88 \pm 0,10$ mmol/l, t 0: $0,83 \pm 0,16$ mmol/l, $p < 0,05$)

8.4 Bespreking

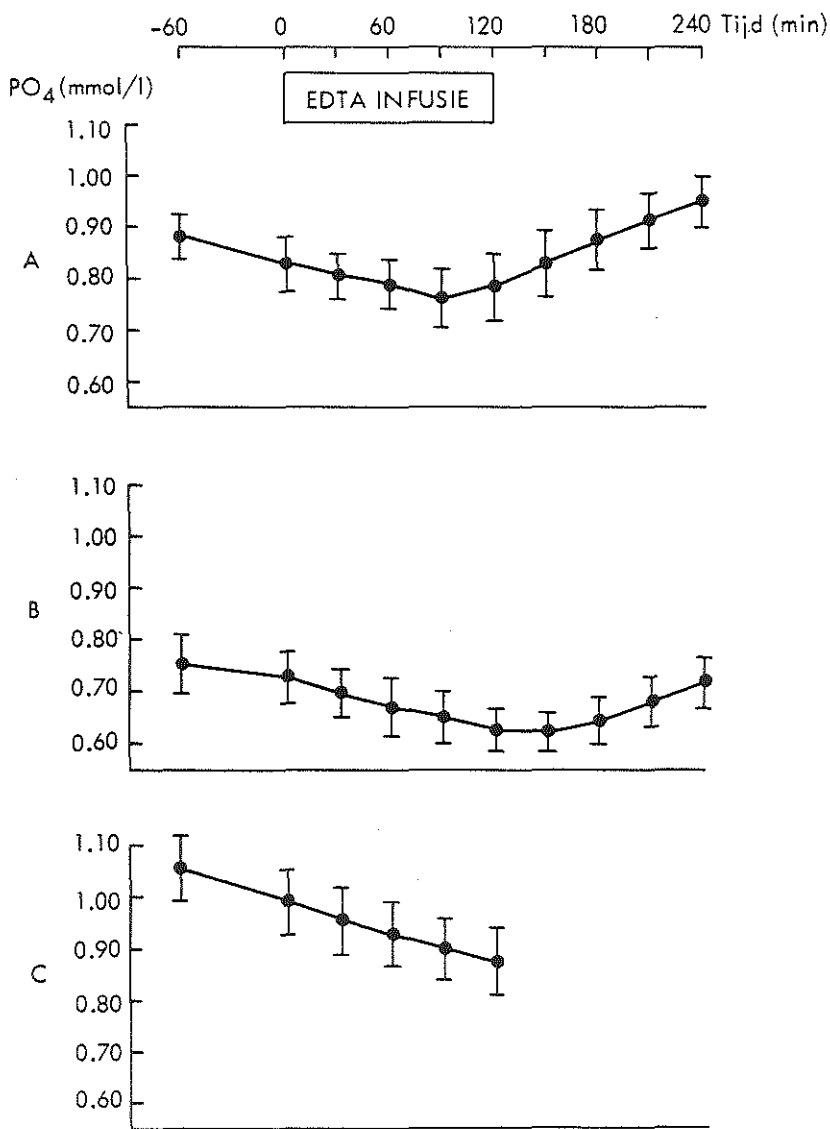
8.4.1 Veranderen in de serumcalciumconcentratie.

De door andere onderzoekers gevonden maximale serumcalciumdaling aan het einde van EDTA infusie-testen verricht bij gezonden en bij patiënten met PHP, bedroeg bij gebruik van eenzelfde hoeveelheid EDTA en eenzelfde infusieduur gemiddeld 0,45-0,55 mmol/l (Lockfeer e.a. 1974; Burckhard e.a. 1980; Adams en Chalmers 1965; Klotz e.a. 1963). De daling van de serumcalciumconcentratie t.o.v. de uitgangswaarde was bij de door ons onderzochte patiënten steeds kleiner en bedroeg op t 120 voor de groep patiënten met PHP $0,313 \pm 0,070$ mmol/l, voor de groep patiënten met vitamine D-deficiëntie $0,188 \pm 0,100$ mmol/l en voor de groep patiënten met een niersteenlijden $0,272 \pm 0,141$ mmol/l. Waarschijnlijk is de oorzaak van het verschil in de door genoemde onderzoekers en ons waargenomen maximale serumcalciumdaling een gevolg van een verschillende proefopstelling. Door de genoemde onderzoekers werd tegelijkertijd begonnen met intraveneuze vochttoediening (500 cc glucose 5% oplossing in 2 uur) en toediening van EDTA. Hierdoor wordt een diluterende factor mede bepalend voor de verandering van de serumcalciumconcentratie.

t -60	67,4	\pm 6,8	gr/l
t 0	67,9	\pm 7,1	gr/l
t 60	67,6	\pm 6,6	gr/l
t 120	67,4	\pm 5,2	gr/l
t 180	65,9	\pm 4,4	gr/l
t 240	65,9	\pm 4,1	gr/l

Tabel VIII.2

Het verloop van de totale eiwitconcentratie (gemiddelde + SD) tijdens de EDTA infusietest, gemeten bij 15 patiënten.



Figuur 8.4

De fosfaatconcentratie in het bloed (mmol/l; gemiddelde + SEM) tijdens de EDTA infusietest bij patiënten met een niersteenlijden (A; n = 11), primaire hyperparathyreoïdie (B; n = 14) en vitamine D deficiëntie (C; n = 13).

Burckhard e.a. (1980) stelden dan ook vast dat bij gebruik van deze proefopstelling de eiwitconcentratie in het bloed tijdens EDTA infusietesten, uitgevoerd bij 18 proefpersonen met gemiddeld 10,3% daalde. Bij onze patiënten werd in de 2 uur voorafgaand aan de EDTA infusie reeds 750 cc glucose 5% geïnfundeerd, zodat een eventuele dilutie zich reeds voltrokken had; tijdens de periode waarin de proefpersonen EDTA toegediend kregen, veranderde de serumeiwitconcentratie dan ook in het geheel niet (tabel VIII.2).

De daling van de concentratie geïoniseerd calcium in het bloed was op t 120, t 180 en t 240 kleiner dan de daling van de totale (niet EDTA gebonden) serumcalciumconcentratie; het verschil was op t 180 statistisch significant ($p < 0,05$; figuur 8.3). Omdat de serumeiwitconcentratie tijdens de test niet duidelijk veranderde (tabel VIII.2) lijkt het gevonden verschil verklaarbaar door een toenemende dissociatie van het aan eiwit gebonden calcium als gevolg van een afname van de concentratie geïoniseerd calcium in het bloed (Soffer en Toribara 1961).

De daling van de serumcalciumconcentratie bleek bij de patiënten met vitamine D-deficiëntie op t 30, t 90 en t 120 significant kleiner dan bij de patiënten met PHP (figuur 8.2 en tabel VIII.1). Het lijkt op het eerste gezicht aantrekkelijk deze verschillen te verklaren door aan te nemen dat er bij vitamine D-deficiëntie niet alleen voor de nier (hoofdstuk 7), doch ook op botniveau een toegenomen PTH gevoeligheid bestaat, resulterend in een effectievere calciummobilisatie uit het bot tijdens de geïnduceerde hypocalcaemie. Zowel in vitro (Robertson e.a. 1972) als in vivo (Parfitt 1969, Parsons e.a. 1971, Parsons en Robinson 1971) lijkt echter aangetoond dat de onder invloed van PTH optredende mobilisatie van calcium uit botweefsel pas + 90 minuten na aanvang van de PTH-stimulatie begint, zodat voor het door ons gevonden "vroege" verschil naar een andere verklaring moet worden gezocht. Omdat de binding van calcium aan EDTA een puur chemisch gebeuren is, voor beide groepen volledig gelijk, moet worden aangenomen dat de compensatie van het uit ECV onttrokken calcium effectiever verloopt bij de groep met vitamine D-deficiëntie.

Theoretisch kan dit compensatieverschil bestaan uit een verschil in renale excretie of in toevloed uit een "reserve pool":

A. Renale compensatie.

Hierbij kunnen twee mechanismen worden verondersteld:

1. Terugresorptie van gefiltreerd calcium na dissociatie van het calcium-EDTA complex in het zure milieu van de tubulaire urine. Het calcium-EDTA complex wordt voor een aanzienlijk deel reeds tijdens de infusie-periode in de urine uitgescheiden (Parfitt 1969). De binding tussen calcium en EDTA is in zuur milieu instabiel (Rubin 1963; Soffer en Toribara 1961); men zou zich kunnen voorstellen dat een verschil in de mate van dissociatie of in de mate van terugresorptie van onder invloed van het zure urinemilieu van het EDTA gedissocieerde calcium het verschillend verloop van de serumcalciumconcentratie bij de onderzochte patiëntengroepen zou kunnen verklaren. Infusie van calcium EDTA in eenzelfde als de door ons gehanteerde hoeveelheid natrium EDTA veroorzaakt echter geen stijging van de nietcomplexgebonden calciumconcentratie in het bloed, terwijl er bij gebruik van calcium- of natrium EDTA, geen duidelijk verschil is in de tijdens de infusieperiode optredende toename van de calciumexcretie in de urine (Parfitt 1969). Bovendien bestaat er geen aanleiding om aan te nemen dat dit proces, zo het al enige rol speelt, meer uitgesproken zou zijn bij vitamine D-deficiëntie dan bij PHP.
2. De terugresorptie van niet complexgebonden calcium zou dusdanig kwantitatief kunnen verschillen dat er in het tijdsbestek van de EDTA infusie bij de vitamine D-deficiënte groep minder calcium uit het ECV verdwijnt. Om het door ons gevonden concentratieverschil tussen beide groepen van 0,13 mmol/l op t 120 met dit mechanisme te verklaren, zou er tijdens de 2 uur durende infusieperiode tussen de 2 groepen een verschil in calciumexcretie moeten bestaan van $0,13 \times 0,2$ mmol calcium per kg lichaamsgewicht (concentratie verschil \times volume ECV per kg in liters).

Een calciumexcretie van 0,026 mmol/kg per 2 uur vormt een veelvoud van de hoeveelheid welke bij patiënten met PHP basaal wordt uitgescheiden. Bovendien toonden Nordin e.a. (1967) aan dat er tijdens EDTA infusie een daling optreedt van de excretie van niet gecomplexeerd calcium ten opzichte van de basale excretie.

B. Compensatie door mobilisatie uit de "bufferpool" tijdens calciumontrekking door EDTA.

Er bestaan verschillende literatuurgegevens, die het bestaan van een bufferpool van snel mobiliseerbaar calcium bevestigen. In weefselcultuur gebracht botweefsel blijkt, ook in afwezigheid van hormonen, in staat calcium op te nemen of te mobiliseren. Bij een calciumconcentratie in het medium, welke de normale calciumconcentratie in het bloed overtreft, wordt calcium door het botweefsel opgenomen terwijl er bij een lagere calciumconcentratie juist calcium uit het bot wordt afgegeven; een nieuwe evenwichtssituatie wordt hierbij steeds binnen 120 minuten bereikt (Nordin 1976 c). De calciumconcentratie in het incubatiemedium, waarbij geen opname of afgifte van calcium plaatsvindt, is bij avitaal bot aanzienlijk lager, zodat een actief transport van calcium moet worden verondersteld, langs de cellulaire barrière, welke de extracellulaire vloeistof van het botweefsel scheidt (Matthews e.a. 1973). Er zijn aanwijzingen dat het beschreven buffermechanisme in vivo vooral een rol speelt bij het tegengaan van acute veranderingen van de calcium-concentratie in de extracellulaire vloeistof (Neuman 1972; Nordin 1976c).

Men zou dan verwachten dat toediening van EDTA resulteert in een snelle mobilisatie van calcium uit het skelet. Voor zover uit de literatuur gegevens bekend zijn over het beloop van de totale (complex en niet complexgebonden) serumcalciumconcentratie tijdens infusie van EDTA in de door ons gehanteerde dosering (50 mg/kg in 120 minuten) daalde deze tijdens de infusieperiode (Parfitt 1969). Men dient zich echter te realiseren dat infusie van EDTA een belangrijke toename van de calciumexcretie tot gevolg heeft, welke voor een deel reeds binnen 2 uur na het begin van de infusieperiode optreedt (Parfitt 1969; Nordin e.a. 1967).

Spencer e.a. (1956) infundeerden 2 gram EDTA over een aanzienlijk kortere periode (40 minuten) bij een gezonde proefpersoon; tijdens de infusieperiode trad een sterke stijging van de totale (complex en niet complexgebonden) calciumconcentratie in het bloed op. Peacock en Care (1976) infundeerden EDTA bij varkens in een dosering van 80 mg per minuut; de totale serumcalciumconcentratie bleek vanaf het moment dat met EDTA toediening begonnen werd (en dus lang voordat een PTH effect verwacht zou mogen worden) te stijgen waaruit deze auteurs concludeerden dat de geïnduceerde daling van de serumcalciumconcentratie resulteerde in een snelle mobilisatie van calcium vanuit het skelet. Rodan e.a. (1967) kwam met behulp van experimenten waarbij EDTA geïnfundeerde werd in een geïsoleerde hondepoot tot eenzelfde conclusie en toonden, in overeenstemming met de resultaten van het genoemde in vitro-onderzoek aan dat het "buffer-reservoir" dat in het skelet beschikbaar is voor het tegengaan van een acute daling van de calciumconcentratie in het extracellulaire compartiment slechts een beperkte capaciteit heeft.

Onze onderzoeks-resultaten lijken er op indirecte wijze op te duiden dat het vermogen tot mobilisatie vanuit het "bufferreservoir" bij patiënten met vitamine D-deficiëntie groter is dan bij patiënten met PHP. Deze voor ons verrassende bevinding is op het eerste gezicht strijdig met de algemeen aanvaarde opvatting dat er bij de laatste categorie een verhoogde turnover van calcium in het skelet bestaat. Om tot een sluitend inzicht te komen, moet men aannemen dat een verhoogde turnover geenszins betekent dat bij verstoring van de steady state situatie zoals de EDTA-test die oproept, er ook een snellere terugkeer naar de basale calciumconcentratie mag worden verwacht. Kennelijk houdt het herstel van de evenwichtstoestand geen direct verband met de basale turnover van calcium en spelen hierbij andere factoren een rol. Een mogelijke factor zou de lagere uitgangskoncentratie van het calcium bij de vitamine D-deficiënte groep kunnen zijn. Hiermee in overeenstemming zijn de resultaten van het onderzoek van Spencer e.a. (1956).

Deze onderzoekers vergeleken het beloop van de serumcalciumconcentratie tijdens EDTA infusie bij hypercalcaemische kankerpatiënten met de waarden, gevonden bij gezonden; bij de gezonden trad een stijging van de totale (complex en niet complexgebonden) serumcalciumconcentratie op als uiting van compensatoire mobilisatie uit het skelet; deze stijging werd bij de hypercalcaemiepatiënten niet waargenomen. Anderzijds is de hoogte van de uitgangsserumcalciumconcentratie zeker niet de enige factor, die de sterkte van de daling bepaald, gezien de resultaten van het vergelijkend onderzoek van Parfitt (1969) tussen normalen en patiënten met hypoparathyreoïdie (post-thyreoïdectomie) en pseudo-hypoparathyreoïdie. De beide laatste groepen hadden bij een lagere uitgangswaarde van de serumcalciumconcentratie op t 120 eenzelfde Δ Ca als de groep normalen.

Onze bevinding lijkt er mede op te duiden dat EDTA infusie bij vitamine D-deficiëntie zelfs wanneer er een hypocalcaemie bestaat, een relatief veilig onderzoek is, omdat men niet bevreesd hoeft te zijn voor dezelfde mate van calciumdaling als bij de tot dusverre onderzochte ziektebeelden.

8.4.2 Veranderingen in de serumfosfaatconcentratie.

Tijdens de EDTA infusietest trad bij de drie onderzochte groepen proefpersonen steeds een daling van de gemiddelde serumfosfaatconcentratie op. Op grond van gegevens uit de literatuur lijken er een aantal mogelijke verklaringen hiervoor te bestaan:

A. Tijdens infusie van calcium bij gezonde proefpersonen treedt een stijging van de serumfosfaatconcentratie op; deze stijging is tenminste voor een deel een gevolg van mobilisatie van fosfaat uit de weefsels (Nordin en Fraser 1954; Nordin 1976a). Omgekeerd zagen Mazzuoli en Naccarato (1959) tijdens infusie van 3,8 gr. EDTA, opgelost in 500cc fysiologisch zout bij gezonden de serumfosfaatconcentratie dalen; deze daling was te aanzienlijk om verklaard te kunnen worden door een haemodilutie-effect en trad te snel op om verklaard te kunnen worden uit de ten gevolge van bijschildklierstimulatie afnemende tubulaire terugresorptie van fosfaat; zij concludeerden hieruit dat er ten gevolge

van de geïnduceerde hypocalcaemie een aanzienlijk transport van fosfaat van de extra-naar de intracellulaire ruimte plaatsvindt.

- B. Intraveneuze toediening van glucose leidt via een verhoogde insuline-productie tot een toegenomen transport van fosfaat van het extra- naar het intracellulaire compartiment (Knochel 1977; Zamrazil e.a. 1980; Keller en Berger 1980). Bij de door ons onderzochte proefpersonen werd tussen t-120 en t 120 steeds 1250 cc glucose 5% geïnfundeed. Dit mechanisme zou kunnen verklaren waarom de serumfosfaatconcentratie bij de 3 onderzochte patiëntengroepen op t 0 reeds lager was dan op t-60.
- C. Uit de literatuur is bekend dat volume-expansie door een afname van de tubulaire fosfaatterugresorptie tot een toename van de fosfaatexcretie in de urine leidt. De invloed van deze factor is bij de door ons gebruikte proefopstelling waarschijnlijk slechts van beperkte betekenis, omdat bij de hiernaar verrichte studies steeds gebruik werd gemaakt van grote hoeveelheden zoutoplossing als infusievloeistof, waarbij de afname van de tubulaire fosfaatterugresorptie waarschijnlijk secundair was aan de afgenomen terugresorptie van natrium (Frick 1968; Massry e.a. 1969; Suki e.a. 1969; Steele 1970). Bij onze proefopstelling werd echter gebruik gemaakt van een glucose 5% oplossing als infusievloeistof.
- D. De daling van de serumfosfaatconcentratie zou theoretisch voor een deel verklaard kunnen worden uit een tijdens de test afnemende tubulaire fosfaatterugresorptie als gevolg van de opgewekte bij schildklierstimulatie. Een sterke daling van de tubulaire fosfaatterugresorptie via dit mechanisme treedt echter pas op vanaf ± 2 uur na het begin van de EDTA infusie (Mazzuoli en Naccarato 1959), zodat ook deze factor slechts van beperkte betekenis lijkt te zijn.

Samenvattend lijkt de waargenomen daling van de serumfosfaatconcentratie tijdens de EDTA infusietest, uitgevoerd op de in 8.2 beschreven wijze, vooral een gevolg te zijn van een toegenomen fosfaattransport van het extracellulaire naar het intracellulaire compartiment, veroorzaakt door de geïnduceerde daling van de serumcalciumconcentratie en een verhoogde insulineproductie door het gebruik van glucose 5% oplossingen als infusievloeistof.

9. DE INVLOED VAN CIMETIDINE OP DE SERUM IPTH CONCENTRATIE EN DE BIOLOGISCHE ACTIVITEIT VAN PTH BIJ PRIMAIRE HYPERPARATHYREOIDIE

9.1 Inleiding

De incidentie van primaire hyperparathyreoidie (PHP) is aanzienlijk hoger dan vroeger wel verondersteld werd (Heath e.a. 1980). Dit heeft geleid tot een toegenomen belangstelling voor niet-chirurgische behandelingsmethoden voor patiënten waarbij operatieve therapie niet mogelijk of gewenst is. Van zowel propranolol (hoofdstuk 10) als cimetidine zou volgens een aantal onderzoekers een remmende werking op de bijschildklierfunctie uitgaan. Van cimetidine werd totnutoe voornamelijk de invloed op het iPTH bestudeerd, terwijl veranderingen in de biologische activiteit van het PTH niet systematisch bestudeerd werden. Het onderhavige onderzoek werd verricht teneinde na te gaan in hoeverre tijdens behandeling met cimetidine bij patiënten met PHP veranderingen in het iPTH optreden en of deze gevolgd worden door corresponderende veranderingen in enkele parameters die de biologische activiteit van het PTH weergeven.

9.2 Patiënten en proefopstelling

Het onderzoek werd verricht bij vier patiënten met een hypercalciaemie ten gevolge van PHP. Allen voldeden aan de volgende criteria:

- a. de serumcalciumconcentratie was bij drie opeenvolgende bepalingen, verricht met een interval van minstens een week, steeds verhoogd;
- b. uitvoerig klinisch onderzoek leverde geen andere verklaring voor de hypercalciaemie op;
- c. de serumfosfaatconcentratie en de TmPO_4/GFR waren bij allen verlaagd;
- d. het serum iPTH was verhoogd terwijl er een supranormale toename van het iPTH bestond tijdens EDTA infusie;
- e. de kreatinineclearance was bij allen groter dan 90 ml per minuut.

Bij twee van de vier patiënten vond na het onderzoek halsklierexploratie plaats, waarbij bij beiden een bijschildklieradenoom verwijderd werd.

Onderzoek naar de PTH status vóór aanvang van de cimetidinebehandeling vond op twee opeenvolgende dagen plaats (dag -2 en dag -1). Vanaf dag 0 werd dagelijks 2000 mg cimetidine (4x500 mg Tagamet^R) per os toegediend. De patiënten werden wederom onderzocht op dag 16 en 17 van de cimetidinebehandeling. Bij twee patiënten werd de cimetidinebehandeling hierna nog gedurende vier weken voortgezet, waarna op de 42^e dag van de cimetidinebehandeling opnieuw een evaluatie van de PTH-status plaatsvond.

Alle patiënten hadden toegestemd in het onderzoek nadat zij tevoren gewezen waren op het experimentele karakter van het onderzoek.

Evaluatie van de PTH status van de patiënten vond plaats door middel van de volgende metingen: iPTH, serum calcium en fosfaatconcentratie, Tm_{PO_4}/GFR en de cAMP excretie in de urine. De waarden van de Tm_{PO_4}/GFR en de cAMP excretie werden bepaald op de in 6.4.2 en 6.5 beschreven wijze; in de hiervoor om 9.00 uur en 11.00 uur afgenomen bloedmonsters werden tevens de concentraties calcium en iPTH bepaald.

Teneinde een mogelijke directe interferentie van cimetidine met de iPTH bepaling uit te sluiten, werden een aantal bloedmonsters in duplo afgenomen waarbij aan het ene monster geen, aan het duplommonster wel cimetidine toegevoegd werd. De concentratie cimetidine in de duplommonsters varieerde van 5 tot 27 mg/l. Cimetidine bleek de iPTH concentratie in de monsters niet te beïnvloeden.

9.3 Resultaten

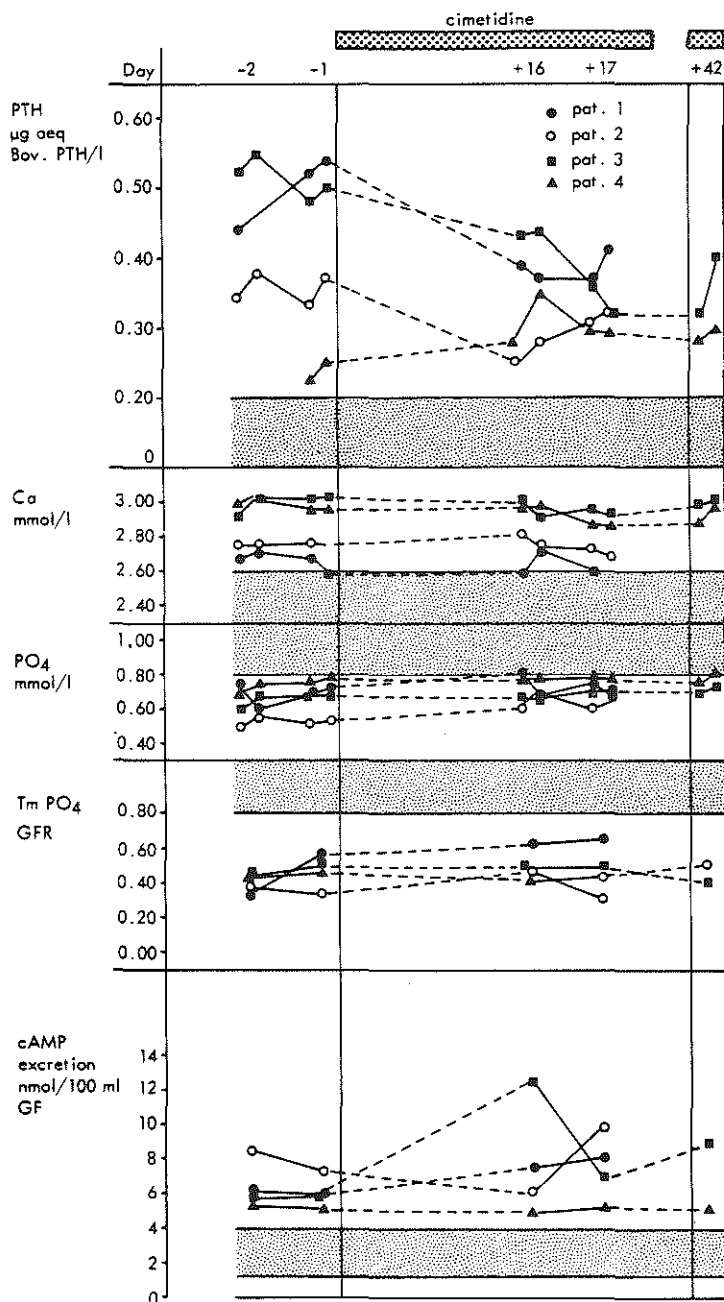
De onderzoeksresultaten zijn samengevat in tabel IX.1 en figuur 9.1

Bij drie van de vier patiënten daalde het serum iPTH tijdens behandeling met cimetidine; bij deze drie patiënten was het iPTH, tijdens behandeling met cimetidine, lager dan de laagste waarde, gemeten voordat met de behandeling begonnen werd. Bij patiënt 1 daalde het iPTH van 0,50 (gemiddelde van drie bepalingen) tot 0,39 (gemiddelde van vier bepalingen) μg aeq rPTH/l;

		<u>iPTH (iU aeq B PTH/l)</u>									
		<u>dag -2</u>		<u>dag -1</u>		<u>dag 16</u>		<u>dag 17</u>		<u>dag 42</u>	
Patiënt	1	0,43	-	0,52	0,54	0,39	0,37	0,37	0,42		
	2	0,34	0,38	0,33	0,37	0,25	0,28	0,31	0,33		
	3	0,52	0,55	0,48	0,50	0,43	0,45	0,36	0,32	0,29	0,42
	4	-	-	0,22	0,25	0,28	0,36	0,31	0,30	0,28	0,30
		<u>serum calciumconcentratie (mmol/l)</u>									
		<u>dag -2</u>		<u>dag -1</u>		<u>dag 16</u>		<u>dag 17</u>		<u>dag 42</u>	
Patiënt	1	2,63	2,71	2,68	2,58	2,59	2,73	2,60	2,60		
	2	2,74	2,74	2,76	2,75	2,81	2,71	2,73	2,67		
	3	2,92	3,03	3,03	3,04	3,00	2,91	2,96	2,92	2,98	3,05
	4	2,99	3,02	2,90	2,92	2,99	2,98	2,89	2,87	2,90	2,97
		<u>serum fosfaatconcentratie (mmol/l)</u>									
		<u>dag -2</u>		<u>dag -1</u>		<u>dag 16</u>		<u>dag 17</u>		<u>dag 42</u>	
Patiënt	1	0,73	0,60	0,69	0,73	0,82	0,68	0,74	0,67		
	2	0,48	0,56	0,51	0,53	0,62	0,73	0,61	0,67		
	3	0,60	0,66	0,68	0,68	0,67	0,69	0,72	0,72	0,70	0,76
	4	0,69	0,75	0,76	0,79	0,81	0,79	0,80	0,78	0,76	0,82
		<u>Tmp₀₄/GFR (mmol/l)</u>									
		<u>dag -2</u>		<u>dag -1</u>		<u>dag 16</u>		<u>dag 17</u>		<u>dag 42</u>	
Patiënt	1	0,34		0,56		0,63		0,66			
	2	0,37		0,35		0,48		0,31			
	3	0,45		0,50		0,48		0,51		0,41	
	4	0,43		0,49		0,45		0,47		0,54	
		<u>cAMP-excretie (nmol/100 cc GF)</u>									
		<u>dag -2</u>		<u>dag -1</u>		<u>dag 16</u>		<u>dag 17</u>		<u>dag 42</u>	
Patiënt	1	6,1		6,0		6,8		7,3			
	2	8,5		7,3		6,1		9,8			
	3	5,7		6,0		12,6		6,9		9,1	
	4	5,7		5,1		5,0		5,4		5,2	

Tabel IX.1

De invloed van Cimetidine op het serum iPTH, de serum calcium- en fosfaatconcentratie, de Tmp₀₄/GFR en de cAMP-excretie in de urine.



Figuur 9

De invloed van cimetidinebehandeling op het serum iPTH, de serum calcium en fosfaatconcentraties, de Tm_{PO_4} GFR en de cAMP excretie in de urine. De gearceerde gebieden geven de normaalwaarden aan.

bij patiënt 2 van 0,36 tot 0,29 μg aeq rPTH/1 en bij patiënt 3 van 0,51 tot 0,39 μg aeq rPTH/1 (gemiddelden van vier bepalingen op twee opeenvolgende dagen) tijdens de eerste 17 dagen van behandeling. Na 42 dagen behandeling bij patiënt 3 bleek het iPTH niet duidelijk lager dan na 17 dagen behandeling. Het iPTH daalde bij geen der patiënten tot normale waarden.

Het uitgangs iPTH van patiënt 4 was slechts licht verhoogd. Bij deze patiënt werd een geringe stijging van het iPTH tijdens de behandeling waargenomen.

Tijdens behandeling met cimetidine werden geen duidelijke veranderingen waargenomen in de serumcalcium en fosfaatconcentraties en de TmPO_4/GFR . De cAMP excretie in de urine was bij alle patiënten verhoogd en bleef tijdens behandeling constant of liep iets op.

9.4 Bespreking

De literatuur betreffende de invloed van cimetidine op het serum iPTH is verwarrend. Sherwood e.a. (1979) namen als eersten waar dat bij een patiënt met PHP en een ulcuslijden zowel de serumcalciumconcentratie als het serum iPTH normaliseerden tijdens behandeling met 1200 mg cimetidine per dag. Deze publicatie werd gevolgd door een studie, verricht bij 12 patiënten met PHP (Sherwood e.a. 1980a); bij alle patiënten normaliseerde het serum iPTH binnen 10 dagen na aanvang van behandeling met 1200 mg cimetidine per dag. De serumcalciumconcentratie daalde volgens de auteurs bij alle patiënten, hoewel hierover in de betreffende publicatie geen getallen worden vermeld. In een derde publicatie (Sherwood e.a. 1980b) werd wederom melding gemaakt van drie patiënten met PHP, waarbij zowel het serum iPTH als de serumcalciumconcentratie tot normale waarden daalden tijdens behandeling met parenteraal toegediend cimetidine.

De methodologie van de genoemde onderzoeken werd bekritiseerd (o.a. Heath 1980) terwijl verschillende onderzoekers de resultaten van Sherwood's onderzoeken niet konden reproduceren, zowel wat betreft de invloed van cimetidinebehandeling op het serum iPTH (Ljunghall e.a. 1980a + b; Graziani e.a. 1980; Williams e.a. 1981)

als wat betreft de invloed van cimetidinetoediening op de serumcalciumconcentratie bij PHP (Ljunhall e.a. 1980 a + b; Palmer e.a. 1980; Graziani e.a. 1980; Awoke en Lawrence 1980). Bovendien bleek in het onderzoek van Graziani e.a. (1980) de TmpO_4/GFR niet te veranderen tijdens cimetidinebehandeling.

Jacob e.a. (1980a) vonden bij zeven haemodialysepatiënten met een hoog serum iPTH een geleidelijke daling van het serum iPTH tot gemiddeld 26% van de uitgangswaarde na 10 weken behandeling met 600-900 mg cimetidine per dag. De serumcalciumconcentratie veranderde echter tijdens de behandeling niet. Hetzelfde fenomeen werd reeds eerder bij een dialysepatiënt waargenomen door Beehler e.a. (1979). Lanier e.a. (1980) zagen bij twee haemodialysepatiënten met een hypercalcaemie tijdens behandeling met 600 mg cimetidine per dag de serumcalciumconcentratie normaal worden.

Ons onderzoek richtte zich op de invloed van cimetidine op zowel het serum iPTH als de biologische activiteit van het hormoon bij patiënten met PHP. Onder invloed van cimetidine trad bij drie van de vier patiënten een daling van het serum iPTH op; de daling van het serum iPTH was echter niet zo spectaculair als in het onderzoek van Sherwood e.a. (1980a); bij geen van de patiënten traden er echter, ondanks daling van het serum iPTH, duidelijke veranderingen in de serum calcium en fosfaatconcentraties of de TmpO_4/GFR op. Ook de cAMP excretie in de urine, welke als een gevoelige parameter voor PTH activiteit te beschouwen is (hoofdstuk 3.1) bleef tijdens behandeling met cimetidine constant of liep iets op.

Waarom bij de vierde patiënt het serum iPTH tijdens cimetidinebehandeling niet daalde, lijkt in eerste instantie niet duidelijk. Wellicht hangt het verschillende beloop van het iPTH samen met het feit, dat het uitgangs iPTH bij deze patiënt slechts licht verhoogd was, hetgeen suggereert dat de verlagende invloed van cimetidine op de serum iPTH concentratie afhankelijk is van het uitgangs iPTH. Robinson e.a. (1980) beschreven hun ervaringen met cimetidinebehandeling bij twee patiënten met PHP als onderdeel van een MEA-syndroom.

In een longitudinale studie bleek cimetidine geen invloed te hebben op het serum iPTH en een aantal indices van PTH activiteit, inclusief de cAMP excretie in de urine. Wellicht is het van betekenis dat het serum iPTH bij hun patiënten hoognormaal was, zodat hun patiënten om deze reden eenzelfde beloop in het iPTH toonden als patiënt 4. Het kleine aantal in dit onderzoek beschreven patiënten laat hierover echter geen definitieve conclusies toe.

In de literatuur zijn verschillende verklaringen gegeven voor de waargenomen dalingen in het serum iPTH en de discrepantie in onderzoeksresultaten. Lanier e.a. (1980) en Sherwood e.a. (1980a) postuleerden een direct remmend effect van cimetidine op bijschildklierniveau. Histamine H₂ receptoren zijn in vitro in bijschildklierweefsel aangetoond (Brown 1980; Abboud e.a. 1980; Williams e.a. 1981). Deze verklaring lijkt niet aannemelijk omdat men dan zou verwachten dat de parameters voor biologische PTH activiteit dan in eenzelfde mate zouden veranderen als het iPTH zelf, tenzij tegelijkertijd de gevoeligheid van de PTH receptoren voor PTH zou toenemen (hoofdstuk 7). Dezelfde argumenten gelden ten aanzien van de door Lanier e.a. (1980) en Jacob e.a. (1980b) geopperde mogelijkheid dat cimetidine zowel de PTH secretie zou kunnen remmen als een directe, verhogende invloed zou kunnen hebben op de intestinale calciumabsorptie.

Op grond van de discrepanties in waarnemingen vermeld in de literatuur lijken alternatieve hypothesen aannemelijker. Zo zou onder invloed van cimetidine een verminderde secretie van biologisch inactieve PTH fragmenten kunnen plaatsvinden. Een tweede mogelijkheid is, dat cimetidine één of meerdere stappen in de metabole verwerking van het PTH bevordert wat zou kunnen leiden tot verlies van immunoreactiviteit in sommige assays ondanks behoud van biologische activiteit. Reeds eerder werd op de heterogeniteit van de voor de iPTH bepaling in omloop zijnde antisera gewezen (Raisz e.a. 1979). Beide hypothesen bieden een verklaring voor de waarneming dat de mate van daling van het iPTH tijdens cimetidinebehandeling mede afhankelijk is van het gebruikte antiserum (Fiore e.a. 1981; Jacob en Bourgoigni 1980).

Verder is het niet uitgesloten, dat hoewel cimetidine in vitro niet interfereert met de PTH bepaling, in vivo gevormde omzettingsproducten de bepaling van het iPTH wel beïnvloeden.

9.5 Conclusies

Tijdens behandeling van vier patiënten met PHP met 2000 mg cimetidine per dag gedurende 17-42 dagen werden de volgende waarnemingen gedaan:

- a. het serum iPTH daalde tijdens behandeling bij drie van de vier onderzochte patiënten; bij een vierde patiënt, met een lager uitgangs iPTH, trad een lichte stijging van het serum iPTH tijdens behandeling op;
- b. de serumcalcium en fosfaatconcentratie, de Tm_{PO_4} /GFR en de cAMP excretie in de urine vertoonden bij geen van de bestudeerde patiënten een tendens tot normalisering.

Uit eigen onderzoek in combinatie met literatuuronderzoek kan de conclusie getrokken worden, dat cimetidine mogelijk de fragmentatie van het intacte PTH molecuul bevordert doch bij PHP geen invloed heeft op de aanwezige biologische PTH activiteit.

10. DE INVLOED VAN PROPRANOLOL OP DE BIJSCHILDKLIERACTIVITEIT BIJ PATIËNTEN MET HYPERTENSIE

10.1 Inleiding.

De bijschildklieren blijken bij electronenmicroscopisch onderzoek een rijke adrenerge zenuwvoorziening te bezitten (Altenahr 1971; Yeghiayan e.a. 1972). Met behulp van studies waarbij gebruik gemaakt werd van radioactief gemerkte β blokkers konden β receptoren direct op de bijschildklieren geïdentificeerd worden (Brown e.a. 1977 a).

Farmacologische stimulatie of inhibitie van de α receptoren lijkt de bijschildklieractiviteit niet aantoonbaar te beïnvloeden (Kukreja e.a. 1975; Metz e.a. 1978; Rodriguez e.a. 1978). β adrenerge agonisten bleken echter in geïsoleerd bovine bijschildklierweefsel de PTH productie te stimuleren (Brown e.a. 1977 b; Kukreja e.a. 1980 a) waarbij uitgaande van de classificatie volgens Lands e.a. (1967) de response het meest gelijk op die van een β -2 receptor (stimulerende potentie van isoproterenol \gg epinefrine \gg norepinefrine; Brown e.a. 1977 b; Kukreja e.a. 1980 a). Selectieve β -1 agonisten bleken echter in staat de bijschildklieractiviteit te stimuleren terwijl selectieve β -2 agonisten in dit opzicht geen effect hadden; bovendien zag men geen stimulatie van de bijschildklieractiviteit optreden indien tegelijkertijd met isoproterenol ook β -1 antagonisten toegevoegd werden. Kennelijk verschilt de adrenerge PTH receptor in termen van selectieve versus nonselectieve adrenerge stimulatie van de klasieke β -1 receptor in het hart en de β -2 receptor in de bronchiaalboom (Kukreja e.a. 1980a).

Zowel een hypocalcaemische als een adrenerge stimulus kunnen de adenylcyclaseactiviteit in geïsoleerd bijschildklierweefsel doen toenemen (Williams e.a. 1973; Abe en Sherwood 1972; Brown e.a. 1977a, 1977b). Ook kunnen beide stimuli afzonderlijk in een biologisch effect resulteren.

Zo wordt de stimulatie van de PTH secretie, teweeggebracht door incubatie van bijschildklierweefsel in een medium met een lage calciumconcentratie, niet belemmerd door de toevoeging van propranolol (Brown e.a. 1977b); na maximale stimulatie van de bijschildklierfunctie door epinefrine neemt de PTH secretie nog wel verder toe onder invloed van een hypocalcaemische stimulus (Blum e.a. 1978). Bij zowel in vitro als in vivo onderzoek is gebleken dat de mate van de response van de bijschildklieren op β adrenerge stimulatie afhankelijk is van de extracellulaire calciumconcentratie (Blum e.a. 1978; Brown e.a. 1979).

De vraag is, welke betekenis deze mechanismen hebben voor de regulatie van de bijschildklieractiviteit in vivo. Bij runderen stijgt de iPTH concentratie in het bloed na éénmalige toediening van β agonisten (Fischer e.a. 1973; Blum e.a. 1978). Een aantal onderzoekers stelden vast dat ook bij gezonde menselijke proefpersonen de iPTH concentratie in het bloed stijgt na éénmalige toediening van isoproterenol of epinefrine; deze stijging trad niet op indien gelijktijdig propranolol toegediend werd (Kukreja e.a. 1975, 1980a; Williams e.a. 1975; Metz e.a. 1978). De bijschildklieren lijken echter zowel in vitro als in vivo snel refractair te worden voor een continue toegediende β -adrenerge stimulus (Brown e.a. 1977b; Blum e.a. 1978). Anderzijds toonden Kukreja e.a. (1975) en Williams e.a. (1975, 1976) aan dat bij gezonden de iPTH concentratie in het bloed daalt na éénmalige toediening van propranolol, hetgeen suggereert dat een continue β -adrenerge tonus een rol speelt bij de regulatie van de bijschildklieractiviteit. Het doel van ons onderzoek was het effect van langdurige β blokkade op zowel de iPTH concentratie in het bloed als op een aantal biologische parameters van de bijschildklierhormoonactiviteit (serumcalciumconcentratie, tubulaire terugresorptie van fosfaat en de cAMP excretie in de urine) te bestuderen.

10.2 Patiënten en proefopstelling

Als proefpersonen fungeerden 8 patiënten met essentiële hypertensie, bij wie door de behandelend arts een indicatie tot behandeling met β -blokkers werd gesteld. Het onderzoek vond steeds tijdens ziekenhuisopname plaats.

Tijdens het onderzoek kregen de proefpersonen geen andere medicamenten dan propranolol (Inderal^R) toegediend. De patiënten werden tevoren over het doel van het onderzoek geïnformeerd en gaven hiervoor hun toestemming. Teneinde de calcium en fosfaatopname tijdens het onderzoek zo constant mogelijk te houden kregen de proefpersonen vanaf 48 uur voordat met het verzamelen van urine begonnen werd, een dieet voorgeschreven dat per 24 uur steeds eenzelfde hoeveelheid calcium (200 mg) en fosfaat (750 mg) bevatte.

Urine werd steeds verzameld over perioden van 24 uur, van 9.00 uur tot 9.00 uur, waarbij steeds aan het einde van iedere verzamelperiode in nuchtere toestand bloed afgenomen werd. De urine werd opgevangen in speciale flessen, waaraan tevoren 12 cc 12 N zoutzuur was toegevoegd (4.3). In de urine werden de concentraties krea-tinine, fosfaat en cAMP bepaald, In de bloedmonsters werden de concentraties calcium, fosfaat, kreatinine en iPTH bepaald.

Na 3 verzamelperioden werd, direct na de bloedafname, begonnen met orale toediening van propranolol in een dosis van 4 x 10 mg per 24 uur. Na het beëindigen van de vijfde en de zevende verzamelperiode werd de dosis verhoogd tot 4 x 20 respectievelijk 4 x 40 mg propranol. Na afloop van de negende verzamelperiode werd het onderzoek beëindigd.

Teneinde een mogelijke directe interferentie van propranolol met de iPTH bepaling uit te sluiten, werden een aantal bloedmonsters in duplo afgenomen waarbij aan het ene monster geen, aan het andere monster wel propranolol toegevoegd werd.

De concentratie propranolol in de duplomonsters varieerde tussen de 10 en 500 µg per liter; de laatste concentratie is hoger dan de bloedconcentratie welke te verwachten is na toediening van propranolol in de door ons gehanteerde dosis (Heagerty e.a. 1981). Het iPTH met en zonder toevoeging van propranolol werd in deze monsters onderling vergeleken; er bleek geen aantoonbaar verschil te bestaan.

De tubulaire terugresorptie van fosfaat (TRP) en de cAMP excretie in de urine werden berekend op de in 6.4.2 en 6.5 beschreven wijze.

10.3 Resultaten

De resultaten zijn samengevat in tabel X.1 en figuur 10.1.

Voor de groep als geheel bleek de serumcalciumconcentratie tijdens behandeling met propranolol niet systematisch veranderd ten opzichte van de controleperiode. Bij slechts één proefpersoon (patiënt 2) trad tijdens de behandeling met propranolol een duidelijke daling van de serumcalciumconcentratie op. Bij deze patiënt, bij wie de serumcalciumconcentratie tijdens de controleperiode sterk verhoogd bleek, werd enkele maanden later een bij schildklieradenoom verwijderd. Bij de overige 7 patiënten veranderde de serumcalciumconcentratie onder invloed van de propranololbehandeling niet.

Tijdens behandeling met 4×10 mg propranolol was de gemiddelde iPTH concentratie in het bloed significant lager dan tijdens de controleperiode ($0,141 \pm 0,045$ vs $0,177 \pm 0,071 \mu\text{g aeq rPTH/l}$; $p < 0,05$). Hoewel ook tijdens behandeling met 4×20 en 4×40 mg propranolol de iPTH concentratie lager was dan tijdens de controleperiode ($0,131 \pm 0,062$ respectievelijk $0,140 \pm 0,048 \mu\text{g aeq rPTH/l}$) was het verschil ten opzichte van de controleperiode statistisch niet significant.

De gemiddelde TRP veranderde door de behandeling met propranolol niet.

Ook de cAMP excretie in de urine verschilde tijdens geen der behandelingsperioden met propranolol significant van de waarde, gevonden tijdens de controleperiode terwijl ook geen trendmatig dalende tendens uit het beeld blijkt.

10.4 Bespreking

Verschillende onderzoekers stelden vast dat de iPTH concentratie in het bloed daalt na éénmalige toediening van propranolol bij gezonden. Zo zagen Williams e.a. (1975, 1976) de iPTH concentratie in het bloed bij 9 gezonden dalen tot gemiddeld 65% van de uitgangswaarde nadat 15-120 minuten tevoren propranolol toegediend werd (1 mg intraveneus gevolgd door $60 \mu\text{g}$ per minuut).

Serumcalciumconcentratie (mmol/l)

Patiënt No.	controleperiode	propranololdosering (mg/24u)		
		4x10	4x20	4x40
1	2,51	2,59	2,57	2,57
2	2,92	2,80	2,59	2,38
3	2,42	2,44	2,45	2,45
4	2,42	2,41	2,35	2,41
5	2,50	2,43	2,47	2,51
6	2,40	2,41	2,41	2,35
7	2,51	2,50	2,47	2,35
8	2,10	2,19	2,22	2,32
Gem.	2,473	2,471	2,441	2,418
SD	0,23	0,17	0,12	0,09

TRP (%)

Patiënt No.	controleperiode	propranololdosering (mg/24u)		
		4x10	4x20	4x40
1	87	88	87	85
2	91	92	91	91
3	82	78	79	78
4	84	78	86	86
5	71	68	79	73
6	81	87	88	87
7	93	91	91	91
8	88	90	89	85
Gem.	84,6	84,0	86,3	84,5
SD	6,9	8,5	4,8	6,2

iPTH concentratie in het bloed (µg aeq rPTH/l)

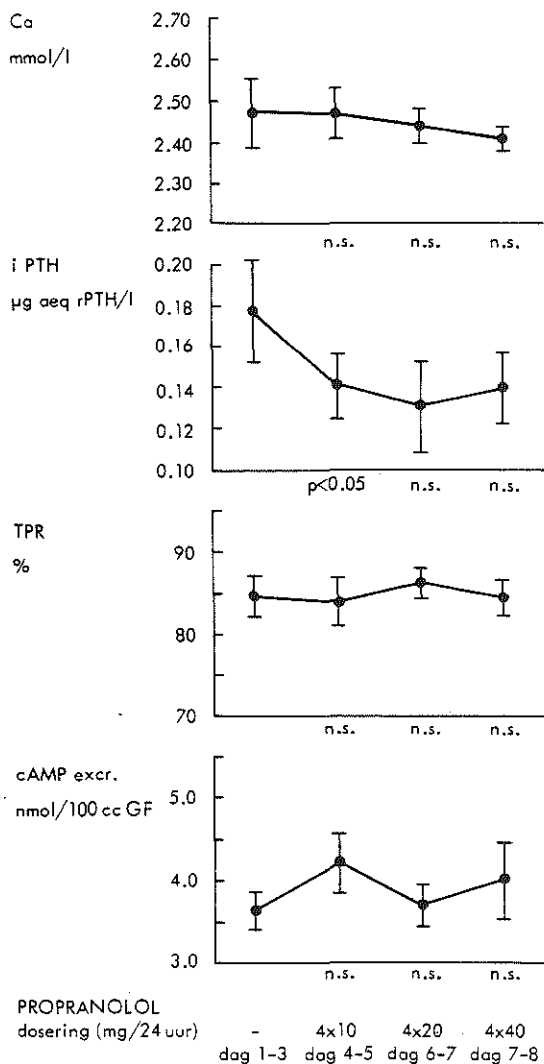
Patiënt No.	controleperiode	propranololdosering (mg/24u)		
		4x10	4x20	4x40
1	0,170	0,115	0,120	0,135
2	0,200	0,180	0,190	0,210
3	0,120	0,095	0,050	0,100
4	0,340	0,225	0,225	0,205
5	0,155	0,110	0,080	0,085
6	0,170	0,145	0,070	0,095
7	0,130	0,100	0,140	0,145
8	0,130	0,160	0,175	0,145
Gem.	0,177	0,141	0,131	0,140
SD	0,071	0,045	0,062	0,048

cAMP excretie in de urine (nmol/100 CCGF)

Patiënt No.	controleperiode	propranololdosering (mg/24u)		
		4x10	4x20	4x40
1	3,45	3,65	3,10	3,70
2	3,50	5,60	3,20	3,90
3	2,90	4,05	3,75	2,40
4	4,03	4,25	3,65	3,70
5	2,70	2,70	2,85	2,95
6	3,90	4,90	4,15	6,85
7	3,63	3,25	3,75	3,95
8	4,90	5,20	4,95	4,65
Gem.	3,63	4,20	3,68	4,01
SD	0,69	0,99	0,66	1,33

Tabel X.1

De serumcalcium en iPTH concentratie, de TRP en de cAMP excretie in de urine voor en tijdens behandeling met 4x10, 4x20 en 4x40 mg propranolol. De controlewaarde werd voor iedere patiënt berekend als het gemiddelde van de 3 dagen voorafgaand aan de propranolol-behandeling. De waarden tijdens propranololbehandeling werden voor iedere patiënt berekend als het gemiddelde van de 2 dagen tijdens welke de betreffende dosering propranolol constant werd gehouden.



Figuur 10.1

De serumcalcium en iPTH concentratie, de TPR en de cAMP excretie (berekend over een 24-uurs verzamelperiode) tijdens behandeling met propranolol (gemiddelde \pm SEM). De controlewaarde werd voor iedere patiënt berekend als de gemiddelde waarde over de 3 verzamelperioden voorafgaand aan de propranololbehandeling. De waarden tijdens propranololbehandeling werden voor iedere patiënt berekend als de gemiddelde waarde over de 2 verzamelperioden tijdens welke de betreffende dosering propranolol toegediend werd.

Bovendien trad een geringe daling van de voor de groep gemiddelde serumcalciumconcentratie op. Kukreja e.a. (1975) vonden 30-60 minuten na toediening van propranolol bij 6 gezonden een daling van de iPTH concentratie tot gemiddeld 70% van de uitgangswaarde; de serumcalciumconcentratie veranderde niet duidelijk.

In ons onderzoek bleek de gemiddelde iPTH concentratie in het bloed ook tijdens langer voortgezette blokkade lager dan tijdens de controleperiode; het verschil was voor de periode, gedurende welke de proefpersonen behandeld werden met 4×10 mg propranolol, statistisch significant. Een effect van farmacologische β -blokkade op de bijschildklieractiviteit zou verklaard kunnen worden door veranderingen in de bloedvoorziening van de bijschildklieren, directe beïnvloeding van de bijschildklieractiviteit en vermindering van de calcitoninesecretie onder invloed van de β -blokkade (Heijnen e.a. 1977, Coevoet e.a. 1980, Vora 1978) waardoor indirect de bijschildklieractiviteit geremd zou kunnen worden (Fisher e.a. 1971; Dufresne en Gitelman 1972). Gelijktijdige remming van de calcitoninesecretie zou dan kunnen verklaren waarom bij 6 van de 8 patiënten de serumcalciumconcentratie niet duidelijk veranderde (Metz e.a. 1978). Indien ten gevolge van de farmacologische β -blokkade de activiteit van de bijschildklieren zou afnemen, zou men echter gelijktijdig met de daling van de iPTH concentratie in het bloed een afname van de cAMP excretie in de urine en een lichte stijging van de TRP verwachten. Zowel de cAMP excretie in de urine als de TRP bleken echter tijdens behandeling met propranolol onveranderd ten opzichte van de controleperiode. Deze gegevens duiden erop, dat ondanks een daling van de iPTH concentratie in het bloed de biologische PTH activiteit tijdens farmacologische β -blokkade niet verandert.

Voor onze, op het eerste gezicht tegenstrijdige onderzoeksresultaten lijken een aantal verklaringen mogelijk. Zo zou farmacologische β -blokkade kunnen resulteren in een vermindering van de bijschildklieractiviteit en een gelijktijdige stijging van de gevoeligheid van de renale PTH-receptoren. Een tweede mogelijkheid is, dat propranolol uitsluitend de secretie van biologisch inactieve PTH fragmenten remt.

Tenslotte is het mogelijk dat farmacologische β -blokkade in vivo de bijschildklieractiviteit in het geheel niet beïnvloedt doch één of meerdere stappen in de metabole verwerking van het PTH bevordert of vertraagt wat zou kunnen leiden tot verlies van immunoreactiviteit in sommige assays ondanks behoud van biologische activiteit.

De vraag is dan, of de in de inleiding beschreven waarnemingen betreffende de invloed van catecholamines op de bijschildklieractiviteit voor de kliniek enige betekenis hebben. In de literatuur zijn mededelingen verschenen waarin patiënten beschreven werden met een feochromocytoom en een hypercalcaemie bij wie de serumcalciumconcentratie tot een normale waarde daalde na verwijdering van het feochromocytoom; het betreft hier echter slechts twee casuïstische mededelingen (Kukreja e.a. 1973; Swinton e.a. 1972). Caro and Besarab (1978, 1979) bestudeerden het effect van propranololtoediening op de iPTH en calciumconcentratie in het bloed bij patiënten met PHP omdat de auteurs veronderstelden dat de verhoogde bijschildklieractiviteit bij deze ziekte wellicht mede onderhouden wordt door een continue β adrenerge tonus. Deze onderzoekers behandelden 8 patiënten met PHP gedurende 5 maanden met propranolol in een dosering van 40-320 mg per dag; de iPTH concentratie in het bloed daalde tot gemiddeld 60% van de uitgangswaarde terwijl de serumcalciumconcentratie met gemiddeld slechts 5% daalde. Ons insziens mag op grond van deze studie niet zonder meer geconcludeerd worden dat behandeling met propranolol bij patiënten met PHP die niet voor chirurgische therapie in aanmerking komen zinvol is. In de eerste plaats was het aantal onderzochte patiënten klein en de response zeer variabel. In de tweede plaats toonden Brown e.a. (1979 b) aan dat bijschildklierweefsel van patiënten met PHP in tegenstelling tot bijschildklierweefsel afkomstig van gezonden in vitro niet altijd reageert op farmacologische β -adrenerge stimulatie. In de derde plaats is dan niet duidelijk, waarom Williams e.a. (1975) na éénmalige toediening van propranolol bij 6 patiënten met PHP in het geheel geen verandering van de gemiddelde iPTH en serumcalciumconcentratie vonden. Tenslotte suggereren de resultaten van ons eigen onderzoek, dat een daling van de iPTH concentratie in het bloed kan optreden zonder dat de biologische PTH activiteit proportioneel verandert.

Het effect van propranolol op de verhoogde bijschildklieractiviteit bij secundaire hyperparathyreoïdie ten gevolge van een nierinsufficiëntie is eveneens omstre-den. Caro e.a. (1978) vergeleken het iPTH en de serum calciumconcentratie van 8 haemodialysepatiënten die in verband met angina pectoris of hypertensie behandeld werden met 40-320 mg propranolol per dag met de waarden van een controlegroep bestaande uit 25 haemodialysepatiënten; hoewel de gemiddelde serumcalciumconcentratie van de twee groepen niet verschild, bedroeg de gemid-delde iPTH concentratie in het bloed bij de eerste groep patiënten gemiddeld 25% van de waarde, welke bij de tweede groep gevonden werd. Het betreft hier echter een retrospectief onderzoek waarbij bovendien geen gegevens vermeld werden over de iPTH-concentratie vóór behandeling met propranolol. Farington e.a. (1980) behandelde 10 haemodialysepatiënten gedurende 12 weken met 40-80 mg propranolol per dag; de gemiddelde serum iPTH concentratie bedroeg na 6 en 12 weken behandeling gemiddeld 92% ($p < 0,05$) respectievelijk 85% (N.S.) van de uitgangswaarde; de gemiddelde serumcalciumconcentra-tie veranderde echter niet. Coevoet e.a. (1980) zagen na éénmalige toediening van propranolol bij 9 patiënten met een nierinsufficiëntie de iPTH concentratie in het bloed dalen tot gemiddeld 60% van de uitgangswaarde; ook deze onderzoekers zagen echter geen effect op de serumcalciumconcentratie.

10.5 Conclusies

Samenvattend blijkt uit literatuuronderzoek dat de bij-schildklierfunctie in vitro gestimuleerd kan worden door β adrenerge farmaca. Enkele onderzoekers vonden een daling van de iPTH concentratie in het bloed na éénmalige toediening van propranolol bij gezonden. Ook in ons onderzoek, waarbij de invloed van gedurende 6 dagen toegediend propranolol op de bijschildklieracti-viteit werd bestudeerd, leek de iPTH concentratie in het bloed na toediening van dit medicament te dalen. De biologische activiteit van het bijschildklierhormoon, waarvoor de serumcalciumconcentratie, de TRP en de cAMP excretie in de urine als maat genomen werden, nam echter tijdens de farmacologische β blokkade niet duide-lijk af. Ons inziens is een daling van de serum iPTH concentratie geen overtuigend bewijs voor een wijziging van de parathyreoïde status bij normalen of patiënten met primaire of secundaire hyperparathyreoïdie.

11 DE CAMP EXCRETIE IN DE URINE BIJ PATIENTEN MET MALIGNIE TUMOREN

11.1 Inleiding

In verreweg de meeste klinische situaties is een verhoogde serumcalciumconcentratie het gevolg van het bestaan van een primaire hyperparathyreoïdie (PHP) of van een maligniteit. Omdat de cAMP excretie in de urine een goede maat gebleken is voor de PTH status, meenden een aantal onderzoekers dat de bepaling hiervan bij hypercalciaemische patiënten zinvol is om deze twee oorzaken van elkaar te kunnen onderscheiden (Dohan e.a. 1972; Drezner e.a. 1976; Murad en Pak 1972). Inmiddels is echter duidelijk geworden dat ook bij een groot aantal patiënten met een hypercalciaemie ten gevolge van een maligne tumor de cAMP excretie in de urine verhoogd is (Rude e.a. 1978; 1981; Steward e.a. 1979; 1980); een verhoogde cAMP excretie bleek vooral voor te komen bij patiënten bij wie geen botmetastasen konden worden aangetoond (Rude e.a. 1978, 1981, Shaw e.a. 1977; Steward e.a. 1980) zodat het lijkt of in deze gevallen een humorale factor verantwoordelijk is voor zowel de hypercalciaemie als de verhoogde nefrogene cAMP productie. Het lijkt aantrekkelijk te veronderstellen dat er bij deze patiënten sprake is van ectopische PTH secretie door tumorweefsel; zo zijn er aanwijzingen dat deze humorale factor, evenals PTH de botresorptie stimuleert (Minkin e.a. 1981), het renale adenylcyclasesysteem activeert (zie boven) en een remmende werking op de tubulaire terugresorptie van fosfaat uitoefent (Steward e.a. 1980). De genoemde humorale factor bleek echter in een aantal opzichten van PTH te verschillen; zo kon een stimulerende werking op de 1,25 DHCC productie in de nier en op de tubulaire terugresorptie van calcium niet worden aangetoond.

Minder duidelijk komt uit de literatuur naar voren of, en in welke mate, de cAMP excretie bij normocalciaemische tumorpatiënten verhoogd is. Prognostisch kan dit van belang zijn, omdat speculatief te verwachten is dat normocalciaemische tumorpatiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie in de loop van hun ziekteproces een hypercalciaemie zullen ontwikkelen tengevolge van de aanwezigheid van de genoemde humorale factor.

Om deze reden bepaalden wij zowel bij aantal (6) hypercalciämische als bij een aantal (27) normocalciämische tumorpatiënten de cAMP excretie in de urine.

Een tweede vraag die wij ons stelden heeft betrekking op de aard van de humorale factor. Bij een aantal tumoren lijkt productie van de prostaglandines E1 en E2 aangetoond (Seyberth e.a. 1975; Easty e.a. 1977; Tashjian 1978, Powles e.a. 1973). Deze prostaglandines bleken in vitro krachtige simulatoren van zowel de bot-resorptie (Klein en Raisz 1971) als de renale adenylcyclaseactiviteit (Hermann e.a. 1979; Biddulph e.a. 1979; Currie en Biddulph 1979). Wij vroegen ons daarom af of de genoemde humorale factor identiek is met het prostaglandine E1 of E2. Om deze reden vergeleken wij bij 5 patiënten met een maligne tumor en een hoge nefrogene cAMP excretie de cAMP excretie voor en tijdens behandeling met de prostaglandinesyntheseremmer indomethacine.

11.2 Patiënten en methoden

Bij het onderzoek werden 33 patiënten met maligne tumoren betrokken; 27 patiënten waren normocalciämisch terwijl 6 patiënten een hypercalciämie hadden. De diagnosen van de verschillende patiënten zijn vermeld in tabel XI.1 en XI.2. Alle patiënten hadden een kreatinine concentratie in het bloed, lager dan 130 $\mu\text{mol/l}$.

Bij alle patiënten werd volgens de 6.4.2. en 6.5 beschreven methode de totale cAMP excretie in de urine en de TmpO_4/GFR bepaald; bij 4/6 hypercalciämische patiënten en bij alle normocalciämische patiënten werd tevens de cAMP concentratie in het bloed bepaald zodat de nefrogene cAMP excretie berekend kon worden. In de afgenomen bloedmonsters werden verder de concentraties calcium en iPTH bepaald. Bij alle hypercalciämische en 20/27 normocalciämische tumorpatiënten werd de calciumconcentratie in de tussen 9.00 uur en 12.00 uur geproduceerde urine bepaald zodat de nuchtere calciumexcretie ($\text{mmol}/100\text{GF}$) berekend kon worden volgens de in 6.5 beschreven methode. De bij de normo- en hypercalciämische tumorpatiënten gevonden waarden van de serumcalcium- en iPTH concentratie, de TmpO_4/GFR en de cAMP en calciumexcretie in de urine werden vergeleken met de waarden gevonden bij een groep normalen (zie 6.4.4) en bij een groep patiënten met primaire hyperparathyreoïdie (PHP, zie 7.2).

Bij 5 normocalcaemische tumorpatiënten die een hoge nefrogene cAMP excretie hadden (patiënt 10, 25, 26, 28 en 30) werd het onderzoek herhaald na behandeling met indomethacine (Indocid^R) in een dosering van 3 x 50 mg per dag gedurende 5 dagen. Deze dosering werd gekozen, omdat uit de literatuur bekend is dat hierbij de synthese van de prostaglandines E1 en E2 aanzienlijk wordt geremd (Flower 1974 Seyberth e.a. 1975). De laatste dosering indomethacine werd steeds één uur voor aanvang van het tweede onderzoek toegediend.

11.3 Resultaten

11.3.1 De hypercalcaemische tumorpatiënten

De totale cAMP excretie in de urine bleek bij ieder der 6 hypercalcaemische tumorpatiënten verhoogd te zijn terwijl de nefrogene cAMP excretie bij de 4 hypercalcaemische tumorpatiënten waarbij deze berekend kon worden, eveneens steeds verhoogd bleek. De bij deze patiënten gevonden waarden van de totale en nefrogene cAMP excretie bleken significant hoger dan bij de 27 normocalcaemische tumorpatiënten (tabel XI.1 en XI.2; figuur 11.1 en 11.2). De TM_{PO_4}/GRF was bij ieder der hypercalcaemische tumorpatiënten verlaagd (figuur 11.3). Een gemiddeld verhoogde totale en nefrogene cAMP excretie en een verlaagde TM_{PO_4}/GFR werd ook gevonden bij de groep patiënten met PHP (figuur 11.1-11.3). Hoewel de serumcalciumconcentratie bij de hypercalcaemische tumorpatiënten gemiddeld hoger was dan bij de patiënten met PHP (figuur 11.4) bleek de iPTH concentratie bij de tumorpatiënten steeds normaal (figuur 11.5). Ook bestond er tussen beiden groepen een opvallend verschil in de nuchtere calciumexcretie; deze bleek bij de hypercalcaemische tumorpatiënten gemiddeld meer dan dubbel zo hoog als bij de patiënten met PHP ($13,79 \pm 6,42$ vs $6,42 \pm 3,18$ mmol/100 l GF; $p < 0,01$; figuur 11.6).

Gesl	Lft	Tumortype	botscan	botboring	Serum ca concentratie (mmol/l)	Serum PO ₄ concentratie (mmol/l)	Serum iPTH concentratie µg rPTH/1	Plasma cAMP concentratie nmol/100 cc	totale cAMP excretie nmol/100ccGF	nefr. cAMP excretie nmol/100ccGF	Tim _{po4} /GFR mmol/l	nuchtere ca-excr. mmol/1GFR
vr	55	mamma- carcinoom	+	-	2,60	0,96	0,16	1,97	6,20	4,23	0,79	3,39
m	75	plaveisel- celcarcinoom long	nv	-	2,67	0,95	0,16	-	4,27	-	0,57	13,35
m	63	plaveisel- celcarcinoom long	+	-	2,67	0,84	0,13	2,34	5,23	2,89	0,54	15,53
vr	70	plaveisel- celcarcinoom long	-	nv	3,23	0,89	0,14	-	6,00	-	0,60	10,48
m	75	plaveisel- celcarcinoom long	-	-	2,69	0,90	0,10	1,37	6,78	5,41	0,50	18,04
m	73	kleincellig longcarcinoom	-	+	3,22	0,84	0,15	1,54	4,60	3,06	0,46	21,93
Gemiddelde					2,85		0,140	1,81	5,51	3,90	0,58	13,79
SD					0,29		0,02	0,44	0,98	1,17	0,12	6,42
Normaalwaarden					2,20-2,60 mmol/l	0,80-1,20 mmol/l	0,02-0,24 g aeq rPTH/1	0,48-2,01 nmol/100cc	1,75-3,85 nmol/100ccGF	0,49-2,37 nmol/100ccGF	0,80-1,35 mmol/l	0,25-5,18 mmol/1001GF

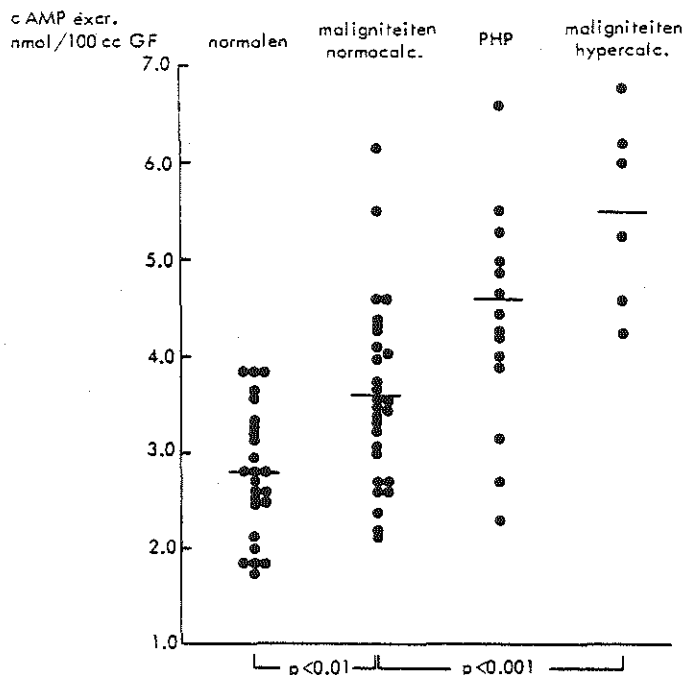
Tabel XI.1

De onderzochte hypercalcaemische tumorpatiënten.

Pat. No.	Gesl	Lft	Tumortype	Serum ca concentratie (mmol/l)	Serum PO ₄ concentratie (mmol/l)	Serum iPTH concentratie µg aeq rPTH/l	Plasma cAMP concentratie nmol/100 cc	totale cAMP excretie nmol/100ccGF	neph. cAMP excretie nmol/100ccGF	Tm _{PO4} /GFR mmol/l	nuchtere ca-excr. mmol/1GFR
7	m	70	mesotheliom	2,16	1,20	0,06	1,12	3,26	2,14	1,12	-
8	m	84	plaveiselcelcarcinoom long	2,13	1,07	0,13	2,43	2,60	0,17	0,67	-
9	vr	49	adenocarcinoom long	2,20	1,12	0,05	0,96	3,54	2,58	1,51	-
10	vr	78	plaveiselcelcarcinoom long	2,43	1,15	0,27	1,71	4,58	2,87	0,93	-
11	m	69	adenocarcinoom pancreas	2,08	1,18	0,13	1,73	2,98	1,25	1,00	-
12	vr	71	kleincellig longcarcinoom	2,22	1,32	0,17	1,22	4,27	3,05	1,49	2,03
13	m	64	plaveiselcelcarcinoom long	2,17	1,09	0,17	1,49	3,39	1,90	1,01	5,62
14	vr	64	adenocarcinoom maag	2,38	1,11	0,09	1,88	2,71	0,83	1,50	2,53
15	vr	81	mammacarcinoom	2,46	1,01	0,18	2,18	3,65	1,47	0,97	2,24
16	vr	73	adenocarcinoom colon	2,13	1,15	0,21	2,14	4,38	2,24	0,97	1,67
17	vr	77	mammacarcinoom	2,20	1,11	0,16	1,80	3,68	1,88	1,01	1,25
18	vr	69	mammacarcinoom	2,58	0,82	0,14	2,33	4,10	1,77	0,76	4,22
19	m	65	adenocarcinoom long	2,30	1,03	0,21	2,11	3,07	0,96	0,91	3,38
20	m	64	ongedifferentieerd longcarcinoom	2,36	1,32	0,14	1,40	3,98	2,58	1,15	2,59
21	m	58	plaveiselcelcarcinoom long	2,27	1,30	0,12	1,57	2,73	1,16	1,68	2,32
22	m	67	adenocarcinoom colon	2,10	0,98	0,20	1,48	2,37	0,89	1,05	-
23	m	66	adenocarcinoom pancreas	2,30	1,17	0,09	1,68	2,57	0,89	1,11	3,27
24	m	81	plaveiselcelcarcinoom long	2,11	0,94	0,14	2,11	3,48	1,37	1,16	5,10
25	m	70	plaveiselcelcarcinoom long	2,37	1,17	0,24	1,42	4,34	2,92	1,19	1,76
26	m	82	plaveiselcelcarcinoom long	2,30	1,04	0,11	1,75	4,06	2,31	0,95	2,50
27	vr	70	mammacarcinoom	2,20	1,17	-	1,22	6,14	4,92	0,99	4,36
28	m	67	kleincellig longcarcinoom	2,52	0,97	0,15	1,19	3,47	2,28	0,62	15,17
29	m	88	plaveiselcelcarcinoom long	2,27	1,25	0,18	3,56	5,48	1,92	1,23	7,06
30	vr	74	mammacarcinoom	2,16	1,23	0,07	2,12	4,61	2,49	1,00	-
31	m	69	plaveiselcelcarcinoom long	2,36	1,16	0,06	2,41	3,56	1,15	1,09	0,82
32	m	75	gemetastaseerd adeno- carcinoom	2,28	1,32	0,08	1,36	2,19	0,83	1,70	4,08
33	m	77	kleincellig longcarcinoom	2,13	1,32	0,05	1,99	2,16	0,17	1,98	5,22
Gemiddelde				2,22	1,14	0,138	1,79	3,61	1,81	1,14	3,86
SD				0,13	0,13	0,060	0,55	0,97	1,02	0,32	3,12
Normaalwaarden				2,20-2,60 mmol/l	0,80-1,20 mmol/l	0,02-0,24 µg aeq rPTH/l	0,48-2,01 nmol/100ccGF	1,75-3,85 nmol/100ccGF	0,49-2,37 nmol/100ccGF	0,80-1,35 mmol/l	0,3-5,2 mmol/100lGF

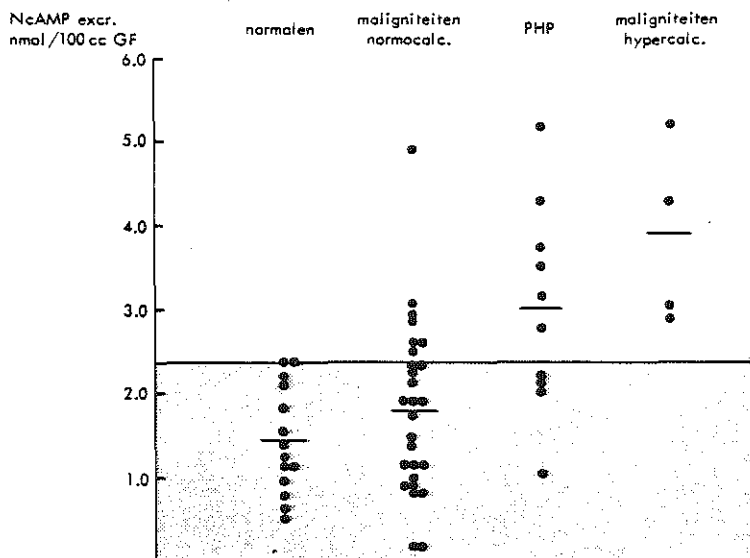
Tabel XI.2

De onderzochte normocalcaemische tumorpatiënten.



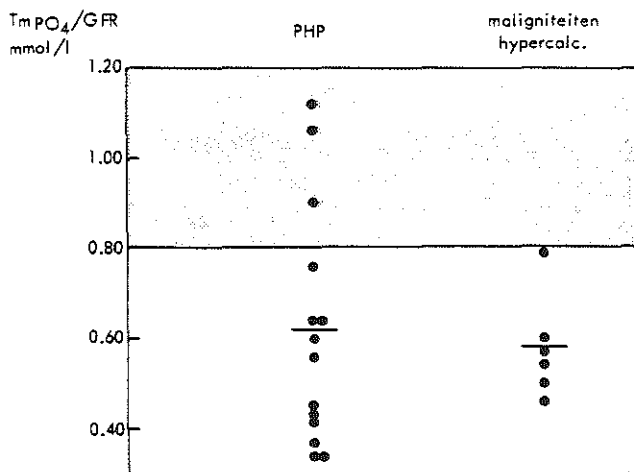
Figuur 11.1

De totale cAMP excretie (nmol/100 cc GF) bij normalen (n = 25), normocalciaemische tumorpatiënten (n = 27), patiënten met PHP (n = 14) en hypercalciaemische tumorpatiënten (n = 6).



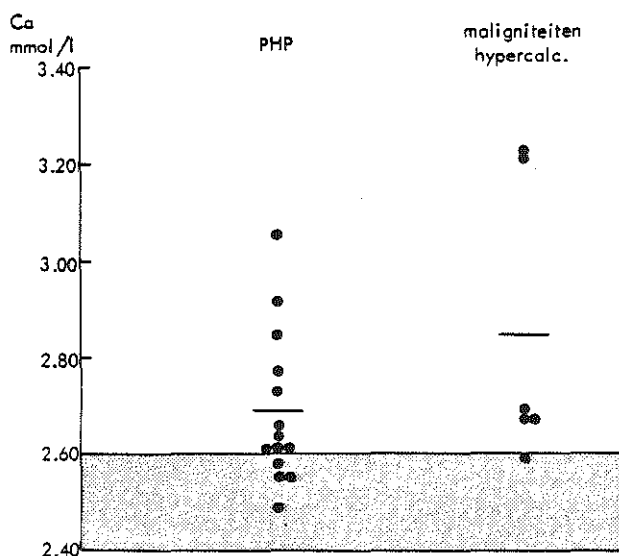
Figuur 11.2

De nefrogene cAMP excretie (nmol/100 cc GF) bij normalen (n = 14), normocalciaemische tumorpatiënten (n = 27), patiënten met PHP (n = 10) en hypercalciaemische tumorpatiënten (n = 4). Het normale gebied is gearceerd aangegeven.



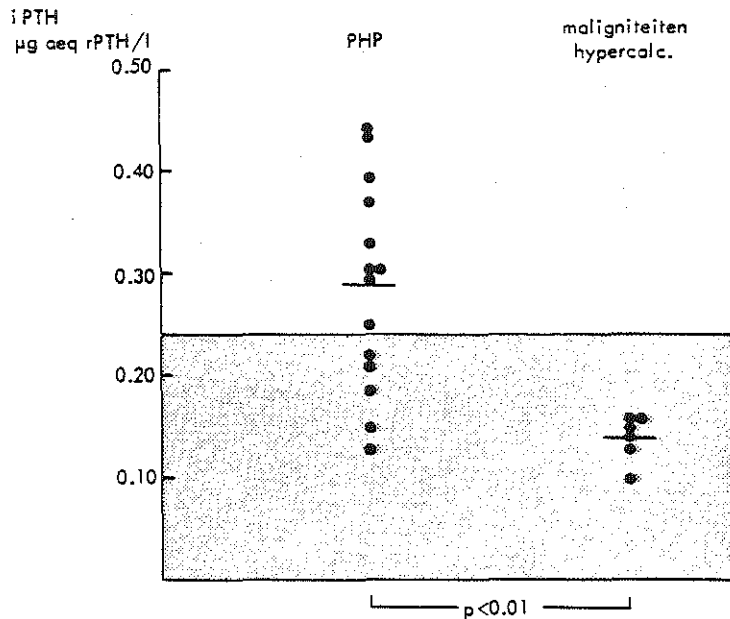
Figuur 11.3

De TmPO₄/GFR (mmol/l) bij patiënten met PHP (n = 14) en de hypercalcaemische tumorpatiënten (n = 6). Het normale gebied is gearceerd aangegeven.



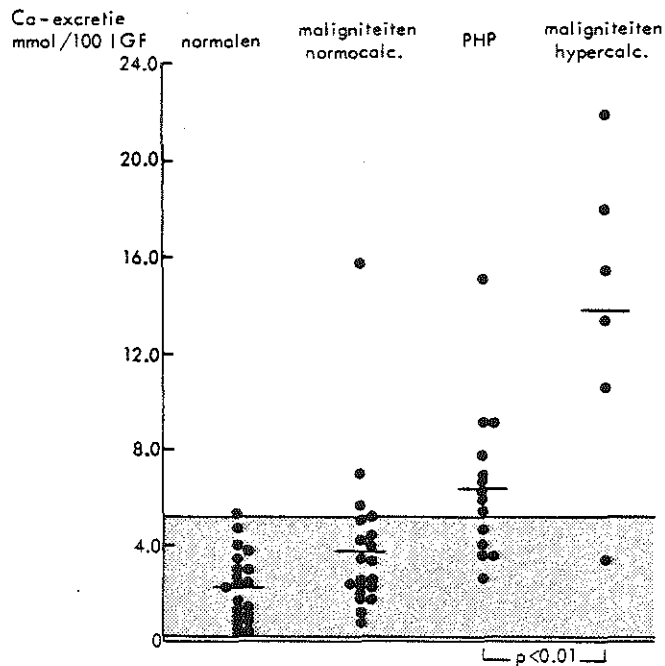
Figuur 11.4

De serumcalciumconcentratie (mmol/l) bij de patiënten met PHP (n = 14) en de hypercalcaemische tumorpatiënten (n = 6).



Figuur 11.5

De iPTH concentratie in het bloed (µg aeq r PTH/1) bij patiënten met PHP (n = 14) en hypercalciaemische tumorpatiënten (n = 6). Het normale gebied is gearceerd aangegeven.



Figuur 11.6

De nuchtere calciumexcretie (mmol/1 GF) bij normalen (n = 21), normocalciaemische tumorpatiënten (n = 21), patiënten met PHP (n = 14) en hypercalciaemische tumorpatiënten (n = 6).

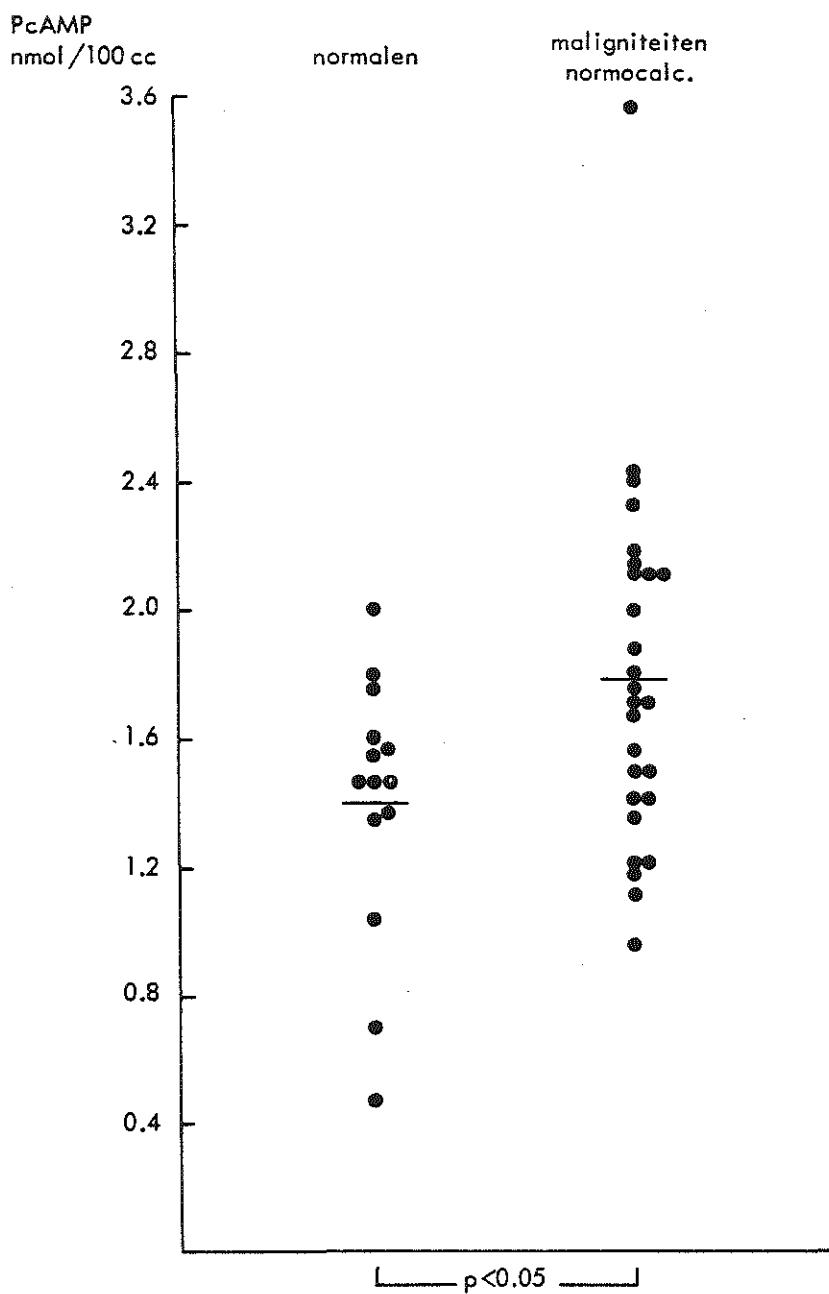
Omdat de gemiddelde serumcalciumconcentratie bij de hypercalcaemische tumorpatiënten hoger was dan die van de patiënten met PHP (figuur 11.4) werd de nuchtere calciumexcretie van de patiënten met PHP met een sterk verhoogd serumcalcium (serumcalciumconcentratie hoger dan 2,63 mmol/l, gemiddeld 2,81 mmol/l, n=7) apart vergeleken met de nuchtere calciumexcretie van de hypercalcaemische tumorpatiënten (gemiddelde serumcalciumconcentratie 2,83 mmol/l n=6); ook nu was het verschil statistisch significant ($7,14 \pm 3,99$ vs $13,79 \pm 6,42$ mmol/100 l GF; $p < 0,05$).

11.3.2 De normocalcaemische tumorpatiënten

De totale cAMP excretie was bij de groep normocalcaemische tumorpatiënten significant hoger dan bij de groep normalen ($3,59 \pm 0,97$ vs $2,80 \pm 0,67$ nmol/100 cc GF; $p < 0,01$, figuur 11.1). Ook de cAMP concentratie in het bloed was bij de eerste groep significant hoger ($1,79 \pm 0,55$ vs $1,40 \pm 0,41$ nmol/100 cc GF; $p < 0,05$; figuur 11.7). De nefrogene cAMP excretie bleek bij 7 van deze 27 patiënten verhoogd (figuur 11.2). Uitgesplitst naar tumortype (figuur 11.8) betrof het hier 2 van de 9 patiënten met een plaveiselcelcarcinoom van de long, 3 van de 6 patiënten met een longcarcinoom van een ander histologisch type en 2 van de 5 patiënten met een mammacarcinoom; de 5 patiënten met een adenocarcinoom van de tractus digestivus hadden allen een normale nefrogene cAMP excretie. Zowel de totale als de nefrogene cAMP excretie van deze 7 patiënten bleken gemiddeld lager dan de waarden, gevonden bij de hypercalcaemische tumorpatiënten ($4,59 \pm 0,69$ vs $5,51 \pm 0,98$ nmol/100 cc GF; $p < 0,05$ respectievelijk $3,06 \pm 0,84$ vs $3,90 \pm 1,17$ nmol/100 cc GF; N.S.). Bij geen van de 7 normocalcaemische tumorpatiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie was de TmPO_4/GFR verlaagd terwijl de nuchtere calciumexcretie bij allen normaal was (figuur 11.9).

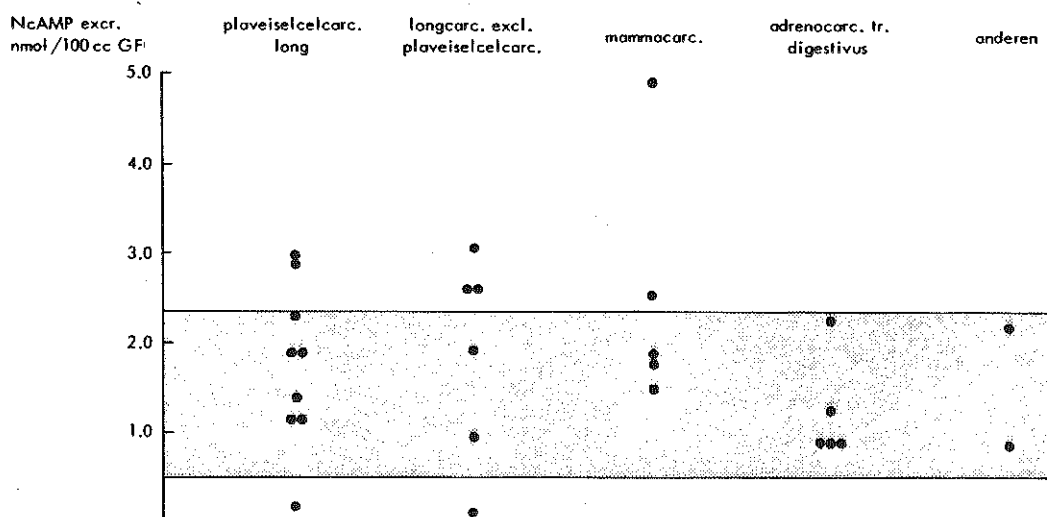
11.3.3 Resultaten van de indomethacinebehandeling

De resultaten van het onderzoek naar het effect van indomethacine op de nefrogene cAMP zijn samengevat in tabel XI.3 en figuur 11.10. Bij slechts één patiënt (patiënt 10) was er sprake van een daling van de nefrogene cAMP excretie, tot een overigens bij het tweede onderzoek nog steeds verhoogde waarde.



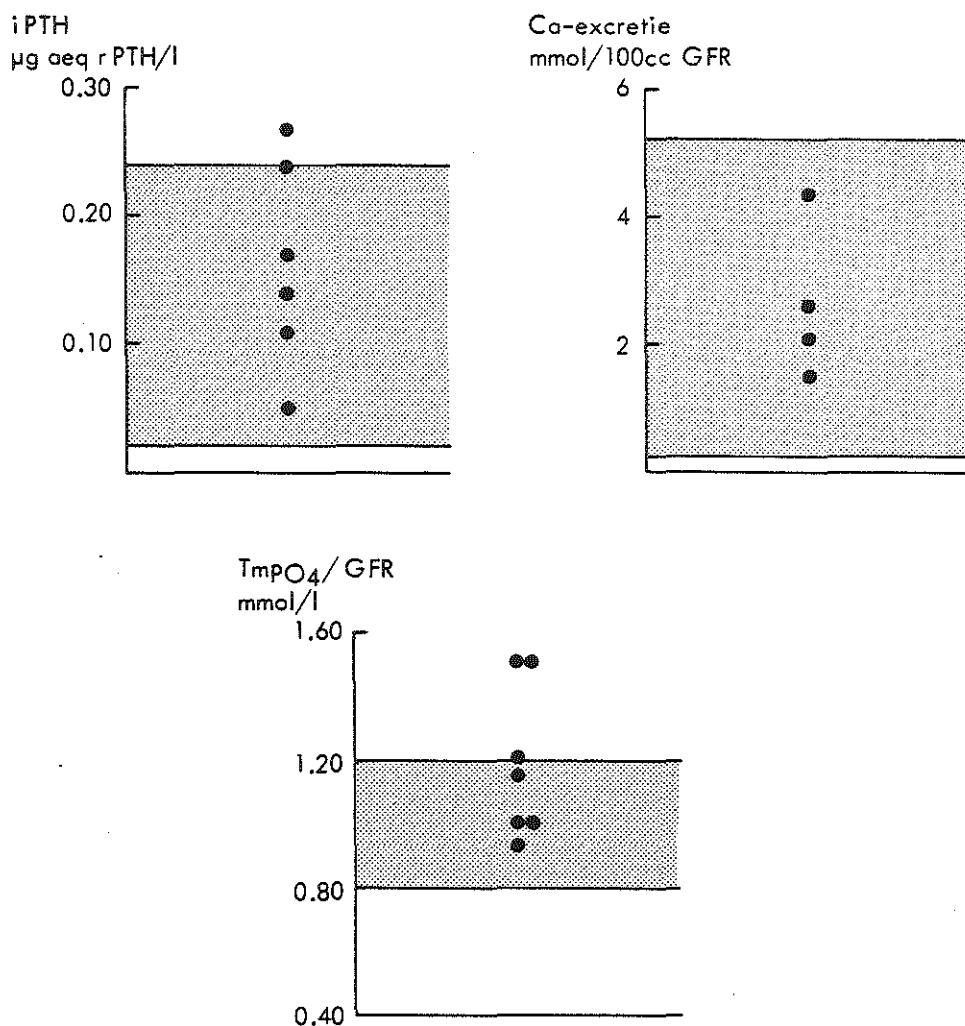
Figuur 11.7

De cAMP concentratie in het plasma (nmol/100cc) bij normalen (n = 14) en de normocalciaemische tumorpatiënten.



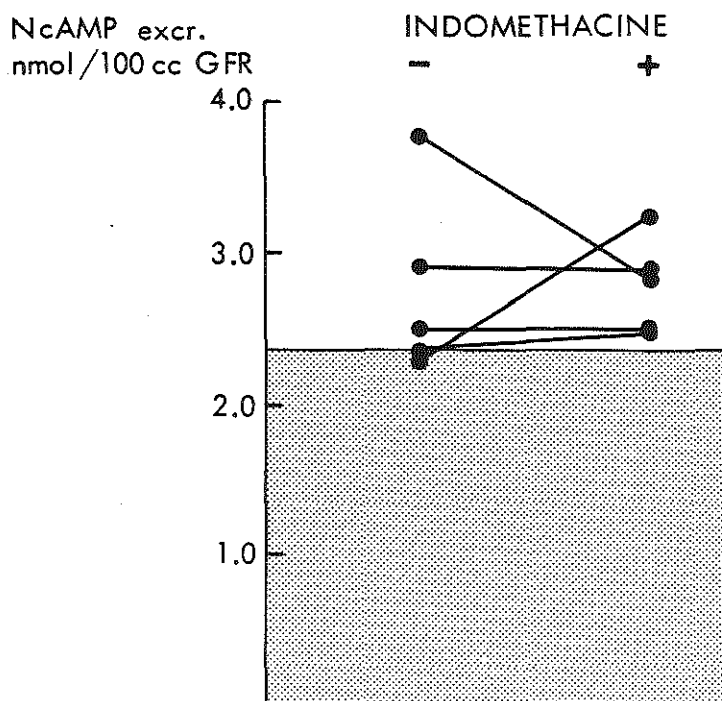
Figuur 11.8

De nefrogene cAMP excretie (nmol/11 cc GF) bij 27 normocalcaemische tumorpatiënten, uitgesplitst naar maligniteits-type. Het normale gebied is gearceerd aangegeven.



Figuur 11.9

De iPTH concentratie in het bloed ($\mu\text{g aeq rPTH/l}$), de nuchtere calciumexcretie (mmol/100l GF) en de TmpO₄/GFR (mmol/l) bij de normocalcaemische tumorpatiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie (n = 7). De normaalwaarden zijn gearceerd aangegeven.



Figuur 11.10

Het effect van indomethacine, 3 x 50 mg gedurende 5 dagen, op de nefrogenen cAMP excretie bij 5 normocalciaemische tumorpatiënten met een hoge nefrogene cAMP excretie. Het normale gebied is gearceerd aangegeven.

Nefrogene cAMP excretie (nmol/100 ccGF)

Patiënt No.	Indomethacine	
	-	+
10	3,81	2,84
25	2,92	2,84
26	2,31	2,48
28	2,28	3,25
30	2,49	2,49

Serumcalciumconcentratie (mmol/l)

Patiënt No.	Indomethacine	
	-	+
10	2,43	2,42
25	2,37	2,22
26	2,30	2,34
28	2,52	3,22
30	2,16	2,15

Tabel XI.3:

De nefrogene cAMP excretie (nmol/100 cc GF) en de serumcalciumconcentratie (mmol/l) bij 5 normocalcaemische tumorpatiënten voor en na behandeling met indomethacine 3x50 mg gedurende 5 dagen.

Opvallend was het beloop bij patiënt 28. Deze patiënt was bij het eerste onderzoek normocalciaemisch (serumcalciumconcentratie 2,52 mmol/l); de Tm_{PO_4}/GFR was op dat moment verlaagd (0,62 mmol/l) en de nefrogene cAMP excretie hoognormaal (2,28 nmol/100 cc GF). Na 5 dagen behandeling met indomethacine bleek deze patiënt hypercalciaemisch (serumcalciumconcentratie 3,22 mmol/l) terwijl de Tm_{PO_4}/GFR gedaald (0,46 mmol/l) en de nefrogene cAMP excretie gestegen was (3,25 nmol/100 cc GF); de nuchtere calciumexcretie bij deze patiënt bedroeg bij het eerste onderzoek 15,1 mmol/100 l GF en bleek na behandeling met indomethacine gestegen te zijn tot 22,8 mmol/100 l GF. Patiënt overleed enkele weken na het staken van de indomethacinebehandeling; de serumcalciumconcentratie bleef tot het overlijden sterk verhoogd.

11.4 Bespreking

Bij een aantal patiënten met een maligne tumor lijkt het ontstaan van een hypercalciaemie geen direct gevolg te zijn van osteolytische skeletmetastasen zodat de productie van humorale substanties welke osteolyse stimuleren, werd overwogen. Humorale factoren waaraan door een aantal auteurs een belangrijke rol is toegekend, zijn het PTH en PTH fragmenten (Sherwood e.a. 1967; Omenn e.a. 1969), de prostaglandines, in het bijzonder de prostaglandines E1 en E2 (Mundy e.a. 1974b; Easty e.a. 1977; Seyberth e.a. 1975; Tashjian 1978) en de "osteoclastic activating factor" (OAF, Mundy e.a. 1974a, 1974b, 1978). Een hypercalciaemie als gevolg van ectopische PTH productie door tumorweefsel lijkt zeldzamer te zijn dan vroeger wel werd verondersteld (Mundy 1978; Neer 1981; Powell e.a. 1973); productie van OAF lijkt vooral een rol te spelen bij het ontstaan van een hypercalciaemie bij patiënten met een leukemie, maligne lymfoom of multipel myeloom (Mundy 1978).

Een aantal onderzoekers menen, dat dezelfde factor welke bij een aantal hypercalciaemische tumorpatiënten verantwoordelijk is voor de hoge nefrogene cAMP excretie, een centrale rol speelt bij het ontstaan van de "humorale" hypercalciaemie bij tumorpatiënten.

Steward e.a. (1980a) bepaalden de nefrogene cAMP excretie bij 57 patiënten met een hypercalciaemie en een maligne tumor; deze bleek bij 41 patiënten verhoogd en bij 9 patiënten verlaagd te zijn. De cAMP excretie bij de eerste groep patiënten was significant hoger dan bij een groep van 15 normocalciaemische tumorpatiënten. Alle patiënten met een verlaagde nefrogene cAMP excretie hadden uitgebreide skeletmetastasen terwijl bij 13 van de 32 patiënten met een verhoogde cAMP excretie bij wie een botscan werd verricht, geen botmetastasen aantoonbaar waren. Ook Shaw e.a. (1977) en Rude e.a. (1978, 1981) vonden bij de door hen onderzochte hypercalciaemische tumorpatiënten minder vaak botmetastasen indien de cAMP excretie hoog was. Het lijkt dus of er binnen de groep hypercalciaemische tumorpatiënten een subgroep bestaat waarbij de hypercalciaemie geen of niet uitsluitend een gevolg is van skeletmetastasering doch samenhangt met de productie van de genoemde humorale factor.

De resultaten van ons onderzoek, waarbij een aanzienlijk kleinere groep hypercalciaemische tumorpatiënten onderzocht werd, zijn met de conclusies van de bovengenoemde auteurs in overeenstemming. Bij de 6 hypercalciaemische tumorpatiënten die door ons onderzocht werden, bleek de cAMP excretie in de urine verhoogd terwijl de nefrogene cAMP excretie bij de 4 patiënten bij wie deze berekend kon worden eveneens verhoogd bleek. De cAMP excretie bij deze patiënten bleek niet alleen verhoogd ten opzichte van een controlegroep bestaande uit normalen, doch ook ten opzichte van een groep normocalciaemische tumorpatiënten (figuur 11.1.-11.2) hetgeen suggereert dat bij deze patiënten één factor verantwoordelijk is voor zowel het ontstaan van de hypercalciaemie als voor de verhoogde nefrogene cAMP excretie. De hypercalciaemische tumorpatiënten hadden allen een verlaagde TmPO_4/GFR (figuur 11.3) zodat het effect van deze humorale factor ook in dit opzicht overeenkomt met dat van PTH.

Shaw e.a. (1977) veronderstelden dat bij hypercalciaemische tumorpatiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie sprake is van ectopische PTH productie door tumorweefsel. Enkele waarnemingen suggereren echter dat de humorale factor in meerdere opzichten van PTH verschilt.

In de eerste plaats bleek de iPTH concentratie in het bloed bij de hypercalcaemische tumorpatiënten niet verhoogd te zijn (figuur 11.5). In de tweede plaats bleek ook na correctie voor verschillen in serumcalciumconcentratie de waarde van de nuchtere calciumexcretie bij de hypercalcaemische tumorpatiënten dubbel zo hoog als bij de patiënten met PHP (figuur 11.6). PTH stimuleert de terugresorptie van calcium in de distale tubulus (Nordin en Peacock 1969). Indien de terugresorptie van calcium in de distale tubulus bij beide patiëntengroepen gelijk zou zijn, zou de twee maal zo hoge nuchtere calciumexcretie bij de hypercalcaemische tumorpatiënten bij gelijke proximale terugresorptie alleen te verklaren zijn door een twee maal zo hoge filtered load m.a.w. een twee maal zo hoge waarde van de concentratie geïoniseerd calcium in het bloed. Omdat de totale serumcalciumconcentratie bij beide patiëntengroepen gelijk was, moet dit betekenen dat de humorale factor de terugresorptie van calcium in de distale tubulus in mindere mate stimuleert dan PTH. Onze resultaten zijn op deze punten in overeenstemming met die van Steward e.a. (1980 en Rude e.a. (1981).

Steward e.a. (1980) toonden aan dat er een derde verschil is tussen de humorale factor en het PTH; terwijl ten gevolge van de verhoogde PTH secretie de 1,25 DHCC concentratie in het bloed bij patiënten met PHP in de meeste gevallen verhoogd is, wordt deze bij hypercalcaemische tumorpatiënten met een hoge nefrogene cAMP excretie meestal verlaagd gevonden; kennelijk wordt de 1 hydroxylaseactiviteit door de renotrope factor niet geactiveerd.

Goltzman e.a. (1981) stelden vast dat de renotrope factor in staat is om evenals PTH de glucose-6-fosfaatdehydrogenaseactiviteit in de niertubuluscellen te activeren; met behulp van een cytochemische bioassay, waarbij van deze eigenschap gebruikt werd gemaakt, konden deze onderzoekers bovendien productie van de humorale factor door in weefselkweek gebrachte tumorcellen aantonen.

Literatuurgegevens over de cAMP excretie bij normocalcaemische tumorpatiënten zijn betrekkelijk spaarzaam. Gennari e.a. (1978) vonden bij 177 normocalcaemische tumorpatiënten een significant lagere cAMP excretie dan bij 149 gezonden;

de cAMP excretie werd hier echter uitgedrukt in mmol per gram kreatine hetgeen op theoretische gronden niet juist is (zie 2.4). Rude e.a. (1981) vonden bij een groep bestaande uit 15 normocalciaemische tumorpatiënten een significant hogere nefrogene cAMP excretie (uitgedrukt in nmol/100 cc GF) vergeleken met de waarden die gevonden werden bij een groep bestaande uit 18 gezonde proefpersonen. Kukreja e.a. (1980b) vonden een verhoogde nefrogene cAMP excretie (nmol/100 cc GF) bij 14 van de 16 door hen onderzochte normocalciaemische patiënten met een longtumor.

Bij ons onderzoek bleken zowel de cAMP concentratie in het bloed als de totale cAMP excretie bij een groep bestaande uit 27 normocalciaemische tumorpatiënten significant hoger dan bij een groep bestaande uit 14 normalen (figuur 11.1, 11.7). De nefrogene cAMP excretie bleek bij 7 van de 27 patiënten verhoogd (figuur 11.2). Eerder onderzoek bij hypercalciaemische tumorpatiënten suggereerde dat vooral patiënten met plaveisel- en niercarcinomen de renotrope factor produceren (Steward e.a. 1980a; Rude e.a. 1981). Bij ons onderzoek, verricht bij normocalciaemische tumorpatiënten, bleek de nefrogene cAMP excretie ook verhoogd te zijn bij een aantal patiënten met een longcarcinoom van een ander histologisch type of een mammacarcinoom (figuur 11.8). In tegenstelling tot wat bij de hypercalciaemische tumorpatiënten het geval was, bleek de TmPO_4/GFR bij geen van de normocalciaemische tumorpatiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie verlaagd (figuur 11.9). Een goede verklaring is hiervoor niet te geven. De verhoogde serumcalciumconcentratie lijkt de verlaagde TmPO_4/GFR bij de hypercalciaemische tumorpatiënten niet te kunnen verklaren (Steward 1980). Mogelijk betreft het hier eerder een kwantitatief effect aangezien de nefrogene cAMP excretie bij de normocalciaemische tumorpatiënten bij wie deze verhoogd gevonden werd gemiddeld lager was in vergelijking met de hypercalciaemische tumorpatiënten.

De vraag is of het bestaan van een verhoogde nefrogene cAMP excretie bij de normocalciaemische patiënt een voorbode is van het ontstaan van een hypercalciaemie. Ons onderzoek laat hierover geen duidelijke uitspraak toe, omdat alle patiënten aansluitend aan het onderzoek voor hun maligniteit behandeld werden.

3 van de 7 patiënten (patiënt 9, 27, 30) zijn nog steeds in een remissie. Patiënt 10 en 12 overleden 10 respectievelijk 8 weken na het onderzoek. De serumcalciumconcentratie was kort voor het overlijden normaal. Patiënt 20 bleek 4 weken na het onderzoek hypercalcaemisch (serumcalciumconcentratie 3,82 mmol/l) en overleed korte tijd hierna. Patiënt 25 onttrok zich aan verder onderzoek.

Bij 9 van de 27 normocalcaemische tumorpatiënten bleek de cAMP concentratie in het plasma verhoogd. De oorzaak hiervan is niet duidelijk. Slechts één van deze patiënten had tevens een verhoogde nefrogene cAMP excretie.

De aard van de humorale factor is nog onbekend. Een aantal auteurs veronderstellen dat productie van de prostaglandines E1 en E2 in vele gevallen verantwoordelijk is voor het ontstaan van 'humorale' hypercalcaemien bij patiënten met maligniteiten. Synthese van deze prostaglandines werd bij een aantal tumortypen aangetoond (Seyberth e.a. 1975; Easty e.a. 1977; Demers e.a. 1977). De prostaglandines E1 en E2 bleken in vitro krachtige stimulators van de botresorptie (Klein en Raisz 1971) terwijl infusie van het prostaglandine E2 bij de rat het ontstaan van een hypercalcaemie tot gevolg heeft (Franklin en Tashjian 1975). Omdat het prostaglandine E2 in vitro tevens een krachtige stimulator van het renale adenylcyclasesysteem is gebleken (Hermann e.a. 1979; Biddulph e.a. 1979; Currie en Biddulph 1979) vroegen wij ons af of de humorale factor identiek is met het prostaglandine E1 of E2. Op grond van de resultaten van ons onderzoek lijkt deze vraag ontkennend beantwoord te kunnen worden. Bij 4 van de 5 patiënten die met indomethacine behandeld werden bleek de nefrogene cAMP excretie niet duidelijk af te nemen. Illustratief was het beloop bij patiënt 28. Deze patiënt was voordat met de indomethacinebehandeling begonnen werd normocalcaemisch. Na de behandeling bleek patiënt hypercalcaemisch terwijl de nefrogene cAMP excretie en de nuchtere calciumexcretie gestegen en de Tm_{PO_4}/GFR gedaald bleek. Het beloop bij deze patiënt illustreert tevens dat waarschijnlijk eenzelfde factor verantwoordelijk is voor zowel de hypercalcaemie, de renale adenylcyclaseactivering als de afgenomen tubulaire fosfaatterugresorptie.

11.5 Conclusies

Op grond van literatuur- en eigen onderzoek kan geconcludeerd worden dat bij een aanzienlijk deel van de hypercalciaemische tumorpatiënten een humorale factor aanwezig is, welke waarschijnlijk in belangrijke mate mede bepalend is voor het ontstaan van de hypercalciaemie. Evenals PTH veroorzaakt deze factor een toename van de nefrogene cAMP excretie en een afname van de tubulaire fosfaatterugresorptie. In tegenstelling tot PTH lijkt deze factor de tubulaire terugresorptie van calcium en de renale 1α hydroxylaseactiviteit niet te stimuleren, terwijl de factor niet als PTH herkenbaar is met de door ons en anderen gebruikte radioimmunoassay. De renotrope factor lijkt evenmin identiek te zijn met de prostaglandines E1 en E2. Ook bij een deel der normocalciaemische tumorpatiënten bleek de nefrogene cAMP excretie verhoogd te zijn. De tubulaire terugresorptie van fosfaat bleek bij deze patiënten echter steeds normaal; de oorzaak hiervan is niet duidelijk.

SAMENVATTING

In dit proefschrift worden een aantal aspecten besproken betreffende de cAMP concentratie in het bloed en de cAMP excretie in de urine.

Na een korte historische inleiding (hoofdstuk 1) wordt in hoofdstuk 2 ingegaan op de fysiologische rol van het cAMP als schakel tussen de receptor en het biologisch effect van het betreffende hormoon, de oorsprong en eliminatie van het cAMP in het bloed en de oorsprong van het cAMP in de urine. In hoofdstuk 3 wordt de invloed van enkele hormonale factoren op de plasmacAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine besproken.

Een aantal factoren, welke de uitkomst van de cAMP bepaling in bloed en urine zouden kunnen beïnvloeden, werden nader onderzocht (hoofdstuk 4). De cAMP bepaling in bloed en urine, verricht volgens de door Tovey e.a. (1974) beschreven methode blijkt redelijk reproduceerbaar; de intraassay en interassayvariatie bleek in het algemeen niet groter dan 5 respectievelijk 10,6 %. Wel is het van belang een aantal voorzorgsmaatregelen te nemen ten aanzien van de monsterverzorging. Voor bloedmonsters bleek de opvang in speciale buizen, waaraan een fosfodiesteraseremmer (bijv. EDTA) is toegevoegd, essentieel. Ook bij de verzorging van urinemonsters dient men speciale maatregelen te nemen teneinde de stabiliteit van het cAMP in de urine te verzekeren b.v. door toevoeging van 12N zoutzuur (0,5 cc per verzameluur) en hieropvolgende directe opslag bij lage temperatuur. De cAMP concentratie in bij -20° opgeslagen, aangezuurde urinemonsters bleek over een periode van 10 maanden niet duidelijk te veranderen. Ten aanzien van de wijze van afname van bloedmonsters werd vastgesteld, dat veneuze stuwings de cAMP concentratie in het bloed niet beïnvloedt. Wel lijkt het met name bij ambulante patiënten van belang er rekening mee te houden, dat de cAMP concentratie in het bloed aanzienlijk stijgt tijdens lichamelijke inspanning.

In hoofdstuk 5 wordt nader ingegaan op de vraagstellingen van het onderhavige onderzoek; de onderzoeksmethoden en gevonden normaalwaarden voor de plasma cAMP concentratie en de cAMP excretie in de urine worden beschreven in hoofdstuk 6.

In hoofdstuk 7 worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de relatie tussen het iPTH en de cAMP excretie in de urine bij verschillende groepen proefpersonen. Bij 11 euparathyreoïde niersteenpatiënten, 14 patiënten met PHP en 13 patiënten met vitamine D deficiëntie werden EDTA stimulatieproeven verricht waarbij de basale en gestimuleerde waarden van het iPTH en de cAMP excretie in de urine werden bepaald. Bij de patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie werd een nauwe lineaire samenhang gevonden tussen de tijdens de test op diverse tijdstippen gevonden waarden van de iPTH concentratie in het bloed en de cAMP excretie in de urine ($n=42$ en $r=0,87$ respectievelijk $n=39$ en $r=0,78$); ook bleek er bij beide groepen een nauw verband aantoonbaar tussen de door EDTA opgewekte stijgingen in het iPTH (de Δ iPTH) en de Δ cAMP excretie (de Δ cAMP excretie) ($n=14$, $r=0,90$, $p<0,001$ respectievelijk $n=13$, $r=0,67$, $p<0,02$).

De stijging van de cAMP excretie in de urine bleek voor gemiddeld 94% een gevolg van een toename van de nefrogene cAMP-fractie. Deze gegevens duiden erop, dat het gebruikte onderzoeksmodel geschikt kan worden geacht om bij patiënten met PHP en vitamine D deficiëntie de relatie tussen variaties in de endogene PTH concentratie en de hierdoor veroorzaakte stijging van de cAMP excretie in de urine te bestuderen. Ook bij de patiënten met een niersteenlijden was een verband tussen de op de diverse tijdstippen gemeten iPTH concentraties in het bloed en de cAMP excretie in de urine aantoonbaar; de correlatie tussen beide parameters was bij deze groep patiënten aanzienlijk lager ($n=33$, $r=0,40$) terwijl bij deze groep een duidelijk verband tussen de Δ iPTH en de Δ cAMP excretie ontbrak. Teneinde de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor het endogene PTH te kwantificeren, werd voor ieder der patiëntengroepen de PTH sensitiviteitsindex, gedefinieerd als het quotiënt Δ cAMP excretie: Δ iPTH berekend. Deze index bleek bij de groep patiënten met vitamine D deficiëntie significant groter dan bij de patiënten met PHP ($32,1 \pm 17,7$, $n=13$ vs $13,8 \pm 4,9$, $n=14$, $p<0,001$) en de patiënten met een niersteenlijden ($32,1 \pm 17,7$, $n=13$ vs $16,7 \pm 10,3$, $n=11$, $p<0,02$); de index bij de patiënten met PHP was niet duidelijk verschillend van die van de patiënten met een niersteenlijden.

Dit gegeven duidt aan, dat bij patiënten met vitamine D deficiëntie de gevoeligheid van het renale adenylcyclasesysteem voor endogeen PTH is toegenomen, hetgeen wellicht als een teleologisch zinrijke aanpassing van de eindorgaangevoeligheid gezien kan worden. Onderzoekresultaten van anderen suggereren dat bij patiënten met PHP de gevoeligheid van de PTH receptoren voor endogeen PTH is afgenomen. Onze onderzoekresultaten steunen deze opvatting niet. De PTH sensitiviteitsindex van de patiënten met PHP verschilde immers niet duidelijk van die van de niersteenpatiënten, terwijl er verder binnen de groep patiënten met PHP geen direct verband aantoonbaar was tussen de serumcalcium en iPTH-concentratie enerzijds en de PTH sensitiviteitsindex anderzijds.

In hoofdstuk 8 worden de in hoofdstuk 7 beschreven patiëntengroepen vergeleken ten aanzien van het beloop van de serumcalcium- en fosfaatconcentratie tijdens de EDTA infusietest. De daling van de serumcalciumconcentratie t.o.v. de uitgangswaarde bleek bij de patiënten met vitamine D deficiëntie op 30, 90 en 120 minuten na het begin van de EDTA infusie significant kleiner dan de daling bij de patiënten met PHP. De meest logische verklaring voor dit verschil is, dat het vermogen tot mobilisatie van calcium uit de 'bufferpool' in het skelet bij patiënten met vitamine D deficiëntie groter is dan bij patiënten met PHP. De niersteenpatiënten hadden een daling van de serumcalciumconcentratie in dezelfde orde van grootte als de patiënten met PHP; er bestond echter geen statistisch significant verschil ten opzichte van de patiënten met vitamine D deficiëntie. Bij de 3 onderzochte patiëntengroepen trad tijdens de EDTA infusie steeds een daling van de serumfosfaatconcentratie op, waarschijnlijk als gevolg van fosfaattransport van het extracellulaire naar het intracellulaire compartiment.

In hoofdstuk 9 worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de invloed van cimetidine op de serum iPTH-concentratie en de biologische activiteit van PTH bij patiënten met PHP. Dit onderzoek werd verricht omdat onderzoekresultaten van anderen suggereren dat cimetidine bij deze patiënten een direct remmende werking op de bij schildklierfunctie uitoefent.

Tijdens behandeling van 4 patiënten met PHP met 2000 mg cimetidine per dag gedurende 17-42 dagen bleek de serum iPTH-concentratie bij drie van de vier onderzochte patiënten te dalen; deze patiënten hadden allen een sterk verhoogd iPTH. Bij een vierde patiënt, bij wie het uitgangs iPTH slechts licht verhoogd was, trad tijdens behandeling een lichte stijging van de serum iPTH-concentratie op. De serumcalciumconcentratie en cAMP-excretie in de urine waren bij alle patiënten verhoogd, terwijl de TmPO_4/GFR en de serumfosfaatconcentratie bij alle patiënten verlaagd waren; deze biologische parameters van de bij schildklieractiviteit vertoonden bij geen der bestudeerde patiënten een tendens tot normalisering. Hieruit kan de conclusie getrokken worden dat cimetidine mogelijk de secretie van biologisch inactieve PTH-fragmenten remt of de fragmentatie van het intacte PTH-molecuul bevordert, doch bij PHP geen invloed heeft op de biologische PTH-activiteit.

In hoofdstuk 10 worden de resultaten beschreven van een onderzoek naar de invloed van β -blokkade op de bij schildklierfunctie. 8 patiënten met essentiële hypertensie werden gedurende 6 dagen met opklimmende hoeveelheden propranolol (maximaal 4 x 40 mg.) behandeld. Dagelijks werden de serumcalcium en iPTH-concentratie, de TRP en de cAMP-excretie in de urine bepaald. Tijdens behandeling met propranolol bleek de voor de groep gemiddelde serum iPTH-concentratie lager dan de uitgangswaarde; het verschil was voor de dagen, waarop 4 x 10 mg. propranolol toegediend werd statistisch significant ($0,141 \pm 0,45$ vs $0,177 \pm 0,071 \mu\text{g aeq rPTH/l}$; $p < 0,05$). De biologische activiteit van het bij schildklierhormoon, waarvoor de serumcalciumconcentratie, de TRP en de cAMP-excretie in de urine als maat genomen werden, nam echter tijdens de propranolol-behandeling niet duidelijk af.

In hoofdstuk 11 worden de resultaten besproken van een onderzoek naar de cAMP excretie bij normo- en hypercalcaemische tumorpatiënten. Bij 6 onderzochte hypercalcaemische tumorpatiënten bleek de totale cAMP excretie steeds verhoogd; bij 4 van deze patiënten werd tevens de nefrogene cAMP excretie bepaald, welke eveneens verhoogd bleek. De bij deze 6 patiënten gevonden waarden van de totale en nefrogene cAMP excretie bleken significant hoger dan de waarden, gevonden bij 27 normocal-

ciaemische tumorpatiënten ($5,51 \pm 0,98$ vs $3,61 \pm 0,97$ nmo/100 cc GF; $p < 0,001$ respectievelijk $3,90 \pm 1,17$ vs $1,81 \pm 1,02$ nmol/100 cc GF; $p < 0,001$) hetgeen tesamen met reeds uit de literatuur bekende gegevens suggereert, dat bij deze patiënten een humorale, renotrope factor aanwezig is, welke zowel verantwoordelijk is voor het ontstaan van de hypercalciaemie, als voor de verhoogde nefrogene cAMP excretie. De 6 hypercalciaemische patiënten hadden allen een verlaagde Tm_{PO_4}/GFR , zodat het effect van deze renotrope factor in dit opzicht met dat van PTH overeenkomt. Deze renotrope factor bleek echter in twee opzichten van PTH te verschillen: de iPTH-concentratie bleek bij de 6 hypercalciaemische tumorpatiënten steeds normaal, zodat deze factor niet als PTH herkenbaar is met de door ons gebruikte radio-immunoassay; verder bleek de nuchtere calciumexcretie bij de 6 hypercalciaemische tumorpatiënten significant hoger dan bij de 14 patienten met PHP ($13,79 \pm 6,42$ vs $6,42 \pm 3,18$ nmol/ 100 l GF; $p < 0,01$), zodat deze factor in mindere mate dan PTH de tubulaire terugresorptie van calcium lijkt te stimuleren. Bij 7 van de 27 normocalciaemische tumorpatiënten bleek de nefrogene cAMP excretie verhoogd, zodat deze renotrope factor ook bij een deel der normocalciaemische tumorpatiënten aanwezig lijkt te zijn. De prostaglandines E1 en E2 zijn in vitro krachtige stimulators gebleken van zowel de botresorptie als de renale adenylcyclase activiteit. 5 Patiënten met een verhoogde nefrogene cAMP excretie werden gedurende 5 dagen behandeld met indometacine in een dosering van 3 x 50 mg per dag. Bij slechts 1 patiënt was er sprake van een daling van de nefrogene cAMP excretie tot een overigens bij het tweede onderzoek nog steeds verhoogde waarde; de renotrope factor lijkt derhalve niet identiek te zijn met de prostaglandines E1 en E2.

SUMMARY

In this thesis, a number of questions concerning the cAMP concentration in blood and the cAMP excretion in urine are explored. After a short historic introduction (chapter 1) the physiologic role of cAMP as intracellular second messenger, the origin and elimination of cAMP in blood and the origin of cAMP in urine are discussed (chapter 2). In chapter 3 the influence of some hormonal factors on plasma cAMP concentration and cAMP excretion in urine is described.

A number of factors which might influence the result of the cAMP assay in blood and urine were examined in more detail (chapter 4). The cAMP assay according to the method of Tovey et al (1974) seems reasonably reproducible; in general the intra assay variation was no larger than 5% and the interassay variation no larger than 10,6 %. It is important to take a number of precautions concerning the collection of samples. The collection of blood samples in special tubes containing a fosfodiësterase inhibitor (e.g. EDTA) is essential. Special precautions are also necessary in collecting urine samples to ensure the stability of cAMP e.g. by adding 12N hydrochloric acid (0,5 ml/collectionhour) followed by immediate storage at low temperature. The cAMP concentration in acidified urine samples did not change significantly during a period of ten months when stored at -20° C. Concerning the collection of blood samples it was found that venous stasis does not influence cAMP concentration in blood. It is important to realise that in ambulant patients the cAMP concentration in blood rises significantly during physical exertion.

In chapter 5 the problems which have initiated the present study and form the subject of this thesis, are being defined. The methods and normal values found for plasma cAMP-concentration and the cAMP excretion in urine are described in chapter 6. In chapter 7 the results are described of an investigation into the relation between iPTH and cAMP excretion in urine in various groups of patients. EDTA stimulation tests in which basal and stimulated values of iPTH and cAMP excretion in urine were determined were done in 11 euparathyroid kidney stone patients, 14 patients with PHP en 13 vitamin D deficient patients.

In the PHP and vitamin D deficient patients a close linear correlation was found between the iPTH-concentration in blood and cAMP excretion in urine at various moments during the test (n=42 and r=0,87; n=39 and r=0,78 respectively). A close correlation was also found in both groups between increases in iPTH (Δ iPTH) and cAMP excretion (Δ cAMP excretion), caused by EDTA. (n=14, r=0.90, p < 0,001 resp. n=13, r=0,67, p < 0,02). The increase of cAMP excretion in urine proved for on average 94% to be caused by an increase of the nephrogenic cAMP-fraction. These results point out that the study model which was applied is suitable to study the relationship between variations in endogenous PTH-concentration and the cAMP excretion in urine in patients with PHP and vitamin D deficiency. Also in patients with kidney stones a correlation between the iPTH-concentrations measured in blood at various moments and the cAMP-excretion in urine was found; the correlation between both parameters in this group of patients was considerably lower (n=33, r=0,40) while a clear correlation between the iPTH and the cAMP excretion was absent in this group. To quantify the sensitivity of the renal adenylcyclase system for endogenous PTH, the PTH sensitivity index defined as the quotient of Δ cAMP-excretion: Δ iPTH was calculated for each of the patient groups. This index was significantly larger in the group of patients with vitamin D deficiency than in the patients with PHP ($32,1 \pm 17,7$ n=13 vs $13,8 \pm 4,9$, n=14, p < 0,001) and the patients with kidney stones ($32,1 \pm 17,7$ n=13 vs $16,7 \pm 10,3$, n=11, p < 0,02); the index in patients with PHP was not clearly different from that in the patients with kidney stones. This result shows that in patients with vitamin D deficiency the sensitivity of the renal adenylcyclase system for endogenous PTH is increased, which might well be seen as a teleologically useful adaption of the end organ sensitivity. Other studies suggested that in patients with PHP the sensitivity of the PTH-receptor for endogenous PTH is decreased. Our results do not support this opinion, as the PTH sensitivity index of patients with PHP did not clearly differ from those of the patients with kidney stones, while within the group of patients with PHP there was no direct correlation between the serum calcium and iPTH-concentration on one hand and the PTH sensitivity index on the other.

In chapter 8 the patient groups described in chapter 7 are compared concerning the course of serum calcium and phosphate concentrations during the EDTA infusion test. The decrease of the serum calcium concentration compared to the value at the start of the test was significantly smaller at 30, 90 and 120 minutes after the beginning of the EDTA-infusion in patients with vitamin D deficiency than in the patients with PHP. The most logical explanation for this difference is that the ability to mobilise calcium from the buffer pool in the skeleton of patients with vitamin D deficiency is larger than in patients with PHP. The kidney stone patients had a decrease in serum calcium concentration of much the same magnitude as the patients with PHP; there was however no statistically significant difference compared with the patients with vitamin D deficiency. In the 3 groups of patients examined there was always a decrease in serum phosphate concentration during EDTA infusion, probably caused by transport of phosphate from the extracellular to the intracellular compartment.

In chapter 9 the results of a study on the influence of cimetidine on the serum iPTH-concentration and the biological activity of PTH in patients with PHP are described. This study was done because study results from elsewhere suggested that cimetidine has an immediate inhibitory effect on parathyroid function in these patients. During treatment of 4 patients with PHP with 2000 mg of cimetidine daily during 17 - 42 days, the serum iPTH-concentration in three of the four patients studied was shown to drop; all these patients had a strongly raised iPTH. In the fourth patient in whom serum iPTH was only slightly raised, a slight increase of the serum iPTH concentration occurred during treatment. The serum calcium concentration and cAMP excretion in the urine were raised in all patients while the Tm_{PO_4}/GFR and the serum phosphate concentration in all patients were depressed; these biological parameters of parathyroid activity did not show any tendency to normalise in the patients who were examined. Therefore one can draw the conclusion that cimetidine may inhibit the secretion of biologically inactive PTH-fragments or may promote fragmentation of the intact PTH-molecule but that has no influence on the biological PTH-activity in PHP.

In chapter 10 the results of a study on the influence of β -blockade on parathyroid function are described. Eight patients with essential hypertension were treated with increasing doses (max. 4 times 40 mg) of propranolol during 6 days. The serum calcium and iPTH-concentration, the TRP and the cAMP excretion in urine were measured. During treatment with propranolol the group average for serum iPTH concentration was lower than the starting value; the difference was statistically significant for the days on which 4×10 mg propranolol was administered ($0,141 \pm 0,45$ vs $0,177 \pm 0,071$ $\mu\text{g aeq rPTH/1}$; $p < 0,05$). The biological activity of the parathyroids, for which the serum calcium concentration, the TRP and the cAMP excretion in urine were taken as a measure, did not clearly decrease during propranolol treatment.

In chapter 11 the results of a study on the cAMP excretion in normo- and hypercalcemic cancerpatients are discussed. In 6 hypercalcemic cancerpatients the total cAMP excretion was continually raised; in 4 of these patients the nephrogenic cAMP excretion was determined as well and was also raised. The values found in these 6 patients for total and nephrogenic cAMP-excretion were significantly higher than the values found in 27 normocalcemic cancerpatients ($5,51 \pm 0,98$ vs $3,61 \pm 0,97$ nmol/100 cc GF ; $p < 0,001$ respectively $3,90 \pm 1,17$ vs $1,81 \pm 1,02$ nmol/100 cc GF ; $p < 0,001$, which suggests together with the results which are already known from the literature that a humoral renotropic factor is present in these patients, which is responsible both for the development of the hypercalcemia and for the raised nephrogenic cAMP-excretion. The 6 hypercalcemic patients all had a depressed TmP04/GFR , indicating that this factor, like PTH, inhibits tubular reabsorption of phosphate. However this renotropic factor appears to differ from PTH in two ways: the iPTH-concentration was found to be normal in the 6 hypercalcemic cancer patients, so that this factor is not recognised as PTH by the radio immunoassay used by us; furthermore the fasting calcium excretion in the 6 hypercalcemic cancer patients was significantly higher than in 14 patients with PHP ($13,79 \pm 6,42$ vs $6,62 \pm 3,18$ nmol/100l GF; $p < 0,01$), indicating that this factor seems to stimulate the tubular reabsorption of calcium less than PTH.

In 7 of the 27 normocalcemic cancer patients the nephrogenic cAMP excretion appeared to be raised so that the renotropic factor seems to be present in a number of normocalcemic cancer patients. The prostaglandins E1 and E2 have been shown in vitro to be potent stimulators of both bone resorption and renal adenylyl cyclase activity. Five patients with a raised nephrogenic cAMP excretion were treated with indometacin in a dose of 3 times 50 mg. per day during 5 days. In only 1 patient was there a decrease of the nephrogenic cAMP-excretion to a value which was still raised also in the second test. Thus the renotropic factor does not seem to be identical to the prostaglandins E1 and E 2.

LITERATUURREFERENTIES

Abboud H.A., Zimmerman D., Edia A.J. and Dousa T.P. (1980).
Histamine and parathyroid adenoma: effect on cyclic amp
accumulation.
Clinical Research 28:515A.

Abdulla Y.H. and Hamadah K. (1970).
3', 5' cyclic adenosine monophosphate in depression and
mania.
Lancet I 378-381.

Abe M. and Sherwood L.M. (1972).
Regulation of parathyroid hormone secretion by adenyl
cyclase.
Biochem Biophys Res Commun 48:396-401.

Adachi J., Abe K., Tanaka M., Miyakawa S., Kumaoaka S.,
Nagata N., Sasaki M. (1974).
Phosphaturic effect of I.V. administered calcitonin in man.
Endocrinol Jpn 21: 317-322.

Adams P.H. and Chalmers T.M. (1965).
Parathyroid function after ^{131}I therapy for hyper-
thyroidism.
Clin Sci 29: 391-395.

Aida M., Hurukawa Y., Miura K., Mihara A., Kato K., Tano T.,
Ojima M., Haniw K., Murukami O., Lee, S.C. and Yoshinaga K.
(1975).
Responsiviness of urinary cyclic AMP and phosphate to para-
thyroid extract in patients with parathyroid disorders.
Tohoku J Exp Med 115: 319-325.

Alston W.C., Allen K.R. and Tovey J.E.
A comparison of nefrogenous cyclic AMP, total urinary cyclic
AMP and the renal tubular maximum reabsorptiv capacity for
phosphate in the diagnosis of primary hyperparathyroidism.

Althenähr E. (1971)
Electron Microscopical evidence for innervation of chief
cells in human parathyroid gland.
Experientia (Basel) 27: 137.

- Amiel C., Chabardès J. en Bailly C. (1981).
Effets de l'hormone parathyroïdienne sur le rein, sites
d'action et mode d'action cellulaire. Actualités Néphrolo-
giques de l'hôpital Necker.
Flammarion Médecine-Sciences.
- Asano T. and Hidaka H. (1975).
3', 5'-cyclic-nucleotide phosphodiesterases of mammalian
sera.
Biochim Biophys Acta 397: 124-133.
- Ashman D.F., Lipton R., Melicow M.M. and Price T.D. (1963).
Isolation of adenosine 3', 5'-monophosphate and guanosine
3', 5'-monophosphate from rat urine.
Biochem Biophys Res Commun 11: 330-334.
- Aurbach G.D., Potts J.T., Chase L.R. and Melson G.L. (1969).
Polypeptide hormones and calcium metabolism.
Ann Intern Med 70: 1243-1265.
- Austin L.A. and Heath H. (1981).
Calcitonin: physiology and pathophysiology.
New Engl J Med 304: 269-278.
- Awoke S. and Lawrence G.D. (1980).
Cimetidine and hyperparathyroidism.
Lancet I: 1134.
- Axelrod D., Radvin P., Koppel D.E., Schlessinger J.,
Webb W.W., Elson E.L. and Podleski T.R. (1976).
Lateral motion of fluorescently labeled acetylcholine recep-
tors in membranes of developing muscle fibers.
Proc Natl Acad Sci 73: 4594-4598.
- Ball J.H., Kaminsky N.I., Hardman J.G., Broadus A.E. (1972).
Effect of catecholamines and adrenergic blocking agents on
plasma and urinary cyclic nucleotides in man.
J Clin Invest 51: 2124-2126.
- Barnett D.B., Edwards I.R. and Smith A.J. (1975).
Antagonism by Indomethacin of diuretic response to calci-
tonin in man.
Br Med J II 686.

Baxter J.D. and Funder J.W. (1979).
Hormone receptors.
New Engl J Med 301: 1149-1161.

Beck N.P., Reed S.W., Murdaugh H.V. and Davis B.B. (1972).
Effects of Catecholamines and their interaction with other
hormones on cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate of the
kidney.
J Clin Invest 51: 939-944.

Beck N., Singh H., Reed S.W. and Davis B.B. (1974).
Direct inhibitory effect of hypercalcemia on renal actions
of parathyroid hormone.
J Clin Invest 43: 717-725.

Beehler C., Beckner J., Rosenquist R. and Shankel S. (1979).
Effect of cimetidine on parathyroid hormone in the chronic-
ally dialyzed patient.
Kidney Int 16: 951.

Biddulph D.M., Currie M.G., Wrenn R.W. (1979).
Effects and interactions of parathyroid hormone and prostag-
landins on adenosin 3', 5'-monophosphate concentrations in
isolated renal tubules.
Endocrinology 104: 1164-1171.

Birnbaumer L. and Rodbell M. (1969).
Adenyl cyclase in fat cells.
J Biol Chem 244: 3477-3482.

Birnbaumer L., Pohl S.L. and Rodbell M. (1969).
Adenyl cyclase in fat cells.
J Biol Chem 244: 3468-3476.

Blonde L., Wehmann R.E. and Steiner A.L. (1974).
Plasma Clearance rates and renal clearance of ³H-labeled
Cyclic A.M.P. and ³H-labeled cyclic G.M.P. in the dog.
J Clin Invest 53: 163-172.

Blum J.W., Fisher J.A. and Hunziker W.H., Binswanger U.,
Picoth G.B., Da Prada M. Guillebeau A. (1978).
Parathyroid hormone responses to catecholamines and to
changes of extracellular calcium in cows.
J Clin Invest 501: 1113-1122.

Bonjour J.P. and Fleisch H. (1977).
Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the renal handling of
Pi in thyroparathyroidectomized rats.
J Clin Invest 60: 1419-1428.

Bonjour J.P., Gloor H.J. and Fleisch H. (1978).
Role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the regulation of the
tubular transport of phosphate.

Bourne H.R., Lehrer R.J. Cline M.J. and Melmon K.L. (1971).
Cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate in the human leuko-
cyte: synthesis, degradation and effects on neutrophil can-
didacidal activity.
J Clin Invest 50: 920-929.

Broadus A.E. (1979).
Nephrogenous cyclic amp as a parathyroid function test.
Nephron 23: 136-141.

Broadus A.E. (1981).
Nephrogenous Cyclic A.M.P.
Recent Prog Horm Res 37: 667-701.

Broadus A.E., Kaminsky N.J., Hardman J.G., Sutherland E.W.
and Liddle G.W. (1970^a).
Kinetic parameters and renal clearances of plasma adenosine
3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate in
man.
J Clin Invest 49: 2222-2235.

Broadus A.E., Kaminsky N.J., Northcutt R.C., Hardman J.G.,
Sutherland E.W. and Liddle G.W. (1970^b).
Effects of glucagon on adenosine 3',5'-monophosphate and
guanosine 3',5'-monophosphate in human plasma and urine.
J Clin Invest 49: 2237-2245.

Broadus A.E., Hardman J.G., Kaminsky N.J., Ball J.H.,
Sutherland E.W. and Liddle G.W. (1971).
Extracellular cyclic Nucleotides.
Ann NY Acad Sci 185: 50-66.

Broadus A.E.
Clinical cyclic nucleotide research.
Adv Cyclic Nucleotide res 1977 8: 509-545.

- Broadus A.E., Mahaffey J.E., Bartter F.C. and Neer R.M. (1977).
Nephrogenous cyclic adenosine monophosphate as a parathyroid function test.
J Clin Invest 60: 771-783.
- Broadus A.E., Deftos L.J. and Bartter F.C. (1978).
Effects of the intravenous administrations of calcium on nephrogenous cyclic AMP: use as a parathyroid suppression test.
J Clin Endocrinol Metab 46: 477-487.
- Broadus A.E., Lang R., Kliger A.S. (1981).
The influence of calcium intake and the status of intestinal calcium absorption on the diagnostic utility of measurements of 24-hour cyclic adenosine 3',5'-monophosphate excretion.
J Clin Endocrinol Metab 52: 1085-1089.
- Brodows R.G., Ensink J.W. and Campbell R.G. (1976).
Mechanism of plasma cyclic amp response to hypoglycemia in man.
Metabolism 25: 659-663.
- Brown E.M. (1980).
Histamine receptors in parathyroid adenomas.
Clinical Research 28: 388^a.
- Brown E., Clarke D.L., Roux V. and Sherman G.W. (1963).
The stimulation of adenosine 3',5'-monophosphate production by antidiuretic factors.
J Biol Chem 238: 852-853.
- Brown E.M., Hurwitz S., Woodard C.J. and Aurbach G.D. (1977^a).
Direct identification of betaadrenergic receptors on isolated bovine parathyroid cells.
Endocrinology 100: 1703-1709.
- Brown E.M., Hurwitz S. and Aurbach G.D. (1977^b).
Effect of B-adrenergic agonists and antagonist on parathyroid hormone release from isolated bovine parathyroid cells.
Endocrinology 100: 1696-1702.

- Brown E.M., Broadus A.E., Brennan M.F. Gardner D.G., Marx S.J., Spiegel A.M., Downs R.W., Attie M. and Aurbach G.D. (1979^a).
Direct comparison in vivo and in vitro of suppressibility of parathyroid function by calcium in primary hyperparathyroidism.
J Clin Endocrinol Metab 48: 604-610.
- Brown E.M., Gardner D.G., Windeck R.A., Hurwitz S., Brennan M.F. and Aurbach G.D. (1979^b).
B adrenergically stimulated adenosine 3',5'-monophosphate accumulation in and parathyroid hormone release from dispersed human parathyroid cells.
J Clin Endocrinol Metab 48: 618-626.
- Burckhardt P., Tscholl-Ducommun J. and Ruedi B. (1980).
Parathyroid response to EDTA in hypoparathyroidism and in tetany.
Acta Endocrinologica 94: 346-353.
- Butcher R.W. and Sutherland E.W. (1962).
Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials.
J Biol Chem 237: 1244-1250.
- Butlen D. and Jard S. (1972).
Renal handling of 3',5'-cyclic amp in the rat.
Pflügers Arch 331: 172-190.
- Bijvoet O.L.M., v.d. Sluis Veer J., de Vries H.R. and Koppen A.T.J. (1971).
Natruretic effect of calcitonin in man.
New Engl J Med 284: 681-688.
- Campbell A.K. and Kane-Maquire B. (1973).
Effect of thyroid hormones on the glucagon-elevated adenosine 3' 5'-cyclic monophosphate content of mature rat liver in organ culture.
Biochem Soc Trans 1: 1002-1005.
- Canterbury J.M., Lerman S., Claflin A.J., Henry H., Norman A. and Reiss E. (1978).
Inhibition of parathyroid hormone secretion by 25-hydroxycholecalciferol and 24,25-dihydroxycholecalciferol in the dog.
J Clin Invest 61: 1375-1383.

Carchman R.A., Jaanus S.D. and Rubin R.P. (1971).
The role of adrenocorticotropin and calcium in adenosine
cyclic 3',5'-phosphate production and steroid release from
the isolated, perfused cat adrenal gland.
Mol Pharmacol 7: 491-499.

Caro J.F. and Besarab A. (1978).
Propranolol therapy for hyperparathyroidism?
Lancet I: 827.

Caro J.F., Besarab A., Burke J.F., Glennon J.A. (1978).
A possible role for propranolol in the treatment of renal
osteodystrophy.
The Lancet II: 451-453.

Caro J.F., Castro J.H. and Glennon J.A. (1979).
Effect of long-term propranolol administration on
parathyroid hormone and calcium concentration in primary
hyperparathyroidism.
Ann Intern Med 745.

Carpenter P.L.
Microbiology 2th edition, 1967.
Saunders Company pag 61 en 255.

Carter D.J. and Heath D.A. (1974).
Urinary cyclic amp excretion in thyroid disease.
Clin Sci Mol Med 47: 19-27.

Carter D.J. and Heath D.A. (1977).
The effect of treatment of hyper- and hypothyroidism on uri-
nary excretion of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate.
Acta Endocrinologica 84: 542-547.

Cassel and Selinger Z. (1977).
Mechanism of adenylate cyclase activation by cholera toxin:
inhibition of GTP hydrolysis at the regulatory site.
Proc Natl Acad Sci 74: 3307-3311.

Chan L. and O'Malley B.W. (1978).
Steroid hormone action: recent advances.
Ann Int Med 89: 694-701.

Chase L.R. and Aurbach G.D. (1967).
Parathyroid function and the renal excretion of 3',5'-adeny-
lic acid.
Proc Natl Acad Sci 58: 518-525.

Chase L.R. and Aurbach G.D. (1968).
Renal adenylyl cyclase: anatomically separate sites for para-
thyroid hormone and vasopressin.
Science 159: 545-547.

Chase L.R. and Aurbach G.D. (1970).
The effect of parathyroid hormone on the concentration of
adenosine 3',5'-monophosphate in skeletal tissue in vitro.
J Biol Chem 245: 1520-1526.

Chase L.R., Fedak S.A. and Aurbach G.D. (1969^a).
Activation of skeletal adenylyl cyclase by parathyroid hormone
in vitro.
Endocrinology 84: 761-768.

Chase L.R., Melson G.L. and Aurbach G.D. (1969^b).
Pseudohypoparathyroidism: defective excretion of 3',5'-AMP
in response to parathyroid hormone.
J Clin Invest 48: 1832-1844.

Coevoet B., Desplan C., Sebert J.L., Makdassi R.,
Andrejak M., Gheerbrant J.D., Tolani M., Calmette C.
Moekhtar M.S., Fournier A. (1980).
Effect of propranolol and metoprolol on parathyroid hormone
and calcitonin secretions in uraemic patients.
Br Med J I: 1344-1346.

Cook W.H., Lipkin D. and Markham R. (1957).
The formation of a cyclic dianhydrodiadenylic acid by the
alkaline degradation of adenosine - 5-triphosphoric acid.
J of the Am Chem Soc 79: 3607-08.

Coulson R. and Bowman R.H. (1974).
Excretion and degradation of exogenous adenosine 3',5'-mono-
phosphate by isolated perfused rat kidney.
Life Sci 14: 545-556.

- Cramer H. and Lindl T. (1974).
Release of cyclic amp from rat superior cervical ganglia
after stimulation of synthesis in vitro.
Nature 249: 380-382.
- Cuatrecasas P. (1974).
Membrane receptors.
Annu Rev Biochem 43: 169-214.
- Currie M.G. and Biddulph D.M. (1979).
Metabolism of cyclic amp in isolated renal tubules: effects
of prostaglandins and parathyroid hormone.
prostaglandins 17: 211-222.
- Davoren P.R. and Sutherland E.W. (1963).
The effect of L-epinephrine and other agents on the syn-
thesis and release of adenosine 3',5'-phosphate by whole
pigeon erythrocytes.
J Biol Chem 238: 3009-3015.
- Debacker M., Mandelier Th., Nijs-De Wolf N., Six R. and
Corvilain J. (1974).
Urinary cyclic amp as an aid in the differential diagnosis
of hypercalcemia.
Biomedicine 21: 338-341.
- Deluca H.F. (1977).
Vitamin D metabolism.
Clin Endocrinol 7: 1-17.
- Demers L.M., Allegra J.C., Harvey H.A., Lipton A.,
Luderer J.R., Mortel R. and Brenner D.E. (1977).
Plasma prostaglandins in hypercalcemic patients with neo-
plastic disease.
Cancer 39: 1559-1562.
- Dohan P.H., Yamashita K., Larsen P.R., Davis B., Deftos L.
and Field J.B. (1972).
Evaluation of urinary cyclic 3',5'-adenosine monophosphate
excretion in the differential diagnosis of hypercalcemia.
J Clin Endocrinol Metab 35: 775-784.

Dousa T.P. (1973).

Role of cyclic amp in the action of antidiuretic hormone on kidney.

Life Sci 13: 1033-1040.

Drezner M.K., Neelon F.A., Curtis H.B. and Lebowitz H.E. (1976).

Renal cyclic adenosine monophosphate an accurate index of parathyroid function.

Metabolism 25: 1103-1112.

Dufresne L.R. and Gitelman H.D. (1972) in:

Calcium, parathyroid hormone and the calcitonins.

ed by R.V. Talmaga and P.L. Munson; Excerpta medica foundation 1972, Amsterdam, pp 202-206.

Easty G.C., Dowsett M. Powles T.J., Easty D.M., Gazet J.C. and Neville A.M. (1977).

Hypercalcaemia in malignant disease: in vitro osteolysis by human breast tumors.

Proc Roy Soc Med 70: 191-195.

Eccleston D., Loose R., Pullar J.A. and Sugden R.F. (1970).

Exercise and urinary excretion of cyclic A.M.P.

Lancet II: 612.

Edelstein S., Charman M., Lawson D.E.M. and Kodicek E. (1974).

Competitive protein-binding assay for 25-hydroxycholecalciferol.

Clin Sci 46: 231-240.

Elkeles R.S., Lazarus J.H., Siddle K. and Campbell A.K. (1975).

Plasma adenosine 3',5'-cyclic monophosphate response to glucagon in thyroid disease.

Clin Sci and Mol Med 48: 27-31.

Erlichman J., Hirsch A.H. and Rosen O.M. (1971).

Interconversion of cyclic nucleotide - activated and cyclic nucleotide - dependent forms of a protein kinase from beef heart.

Proc Natl Acad Sci 68: 731-735.

- Farrington K., Hamzeh J., Varghese Z. and Moorhead J.F. (1980).
Effects of oral propranolol on parathyroid hormone secretion in chronic renal failure.
Br Med J 281:1320.
- Fiore C.E., Malatino L.S. and Kanis J.A. (1981).
Effects of cimetidine on parathyroid hormone metabolism.
Lancet 501.
- Fichman M.P. and Brooker G. (1972).
Deficient renal cyclic adenosine 3'-5' monophosphate production in nephrogenic diabetes insipidus.
J Clin Endocrinol Metab 35: 35-47.
- Fischer J.A., Blum J.W. Binswanger U. (1973).
Acute parathyroid hormone response to epinephrine in vivo.
J Clin Invest 52: 2434-2440.
- Fisher J.A., Oldham S.B., Sizemore G.W. and Arnaud C.D. (1971).
Calcitonin stimulation of parathyroid hormone secretion in vitro.
Horm Metab Res 3: 223-224.
- Flower R.J. (1974).
Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis.
Pharmacol Rev 26: 33-67.
- Forte L.R., Nickols G.A. and Anast C.S. (1976).
Renal adenylate cyclase and the interrelationship between parathyroid hormone and vitamin D in the regulation of urinary phosphate and adenosine cyclic 3',5'-monophosphate excretion.
J Clin Invest 57: 559-568.
- Franklin R.B. and Tashjian A.H. (1975).
Intravenous infusion of prostaglandin e₂ raises plasma calcium concentration in the rat.
Endocrinology 97: 240-243.
- Frick A. (1968).
Reabsorption of inorganic phosphate in the rat kidney.
Pflügers Arch 304: 351-364.

Gennari C., Francini G., Galli M. and Lore Z. (1978).
Urinary excretion of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate
and cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in malignancy.
J Clin Pathol 31: 735-741.

Gerbrandy J., Hellendoorn H.B.A., de Vries L.A. and van
Leeuwen A.M. (1957).
The binding between electrolytes and plasma proteins calcu-
lated from a filtration in vivo method.
International Congress Clinical Chem Stockholm 19-23 August
1957.

Gerbrandy J. Hellendoorn H.B.A., de Vries L.A. en
v. Leeuwen A.M. (1958).
De binding tussen electrolyten en plasma eiwitten bepaald
volgens een filtratie-in-vivo-methode.
Ned Tijdsch Geneesk 38.

Gerbrandy J., v. Leeuwen A.M., Hellendoorn H.B.A.,
de Vries L.A. (1960).
The binding between electrolytes and serum proteins calcula-
ted from an in vivo filtration method.
Clin Sci 19: 181-195.

Gill G.N. and Garren L.D. (1970).
A cyclic-3',5'-adenosine monophosphate dependent protein
kinase from the adrenal cortex: comparison with a cyclic amp
binding protein.
Biochem Biophys Res Commun 39: 335-343.

Glossman H. Baukal A. and Catt K.J. (1974).
Angiotensin 11 receptors in bovine adrenal cortex.
J Biol Chem 249: 664-666.

Goltzman D., Steward A.F. and Broadus A.E. (1981).
Malignancy-associated hypercalcemia: evaluation with a cyto-
chemical bioassay for parathyroid hormone.
J Clin Endocrinol Metab 53: 899-904.

Gorski J. and Gannon F. (1976).
Current models of steroid hormone action: a critique.
Annu Rev Physiol 38: 425-450.

Graziani G. Aroldi A. Colussi G., Surian M., Benvenuti C. and Ponticelli C. (1980).

Cimetidine and hyperparathyroidism.

Lancet I: 1134.

Greengard P. (1978).

Phosphorylated proteins as physiological effectors.

Science 199: 146-152.

Guder W.G. and Rupprecht A. (1975).

Antagonism between parathyroid hormone and norepinephrine on cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) levels in isolated tubules from rat kidney cortex.

Pflügers Arch 354: 177-186.

Gutman A.B. and Gutman E.B. (1937).

Relation of serum calcium to serum albumin and globulins.

J Clin Invest 16: 903-919.

Guttler R.B., Otis C.L., Shaw J.W., Warren D.W. and

Nicoloff J.T. (1974).

Adenyl cyclase as a potential site for thyroid hormone action.

Clinical Research 22: 340^a.

Guttler R.B. Shaw J.W., Otis C.L. and Nicoloff J.T. (1975).

Epinephrine-induced alterations in urinary cyclic AMP in hyper- and hypothyroidism.

J Clin Endocrinol Metab 41: 707-711.

Hamet P., Kuchel O., Cuche J.L., Boucher R. and Genest J. (1973).

Effect of propranolol on cyclic amp excretion and plasma renin activity in labile essential hypertension.

CMA Journal 109: 1099-1103.

Hamet P., Kuchel O., Traysse J. and Genest J. (1974).

Plasma adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in human hypertension.

CMA Journal 111: 323-328.

Hamet P., Lowder S.C. Hardman J.G. and Liddle G.W. (1975).

Effect of hypoglycemia on extracellular levels of cyclic amp in man.

Metabolism 24: 1139-1142.

Hardman J.G., Davis J.W. and Sutherland E.W. (1966).
Measurement of guanosine 3',5'-monophosphate and other
cyclic nucleotides. Variations in urinary excretion with
hormonal state of the rat.
J Biol Chem 241: 4812-4815.

Hardman J.G., Davis J.W. and Sutherland E.W. (1969).
Effects of some hormonal and other factors on the excretion
of guanosine 3',5'-monophosphate and adenosine 3',5'-
monophosphate in rat urine.
J Biol Chem 244: 6354-6362.

Haynes R.C., Sutherland E.W. and Rall T.W. (1960).
The role of cyclic adenylic acid in hormone action.
Recent Prog Horm Res 16: 121-138.

Heagerty A.M., Donovan M.A., Castleden C.M., Pohl, J.F.,
Patel L. and Hedges A. (1981).
Influence of cimetidine on pharmacokinetics of propranolol.
Br Med J 282: 1917-1919.

Heath H. (1980).
cimetidine in hyperparathyroidism.
Lancet I: 980.

Heath H., Hodgson S.F., Kennedy M. (1980).
Primary hyperparathyroidism.
N Engl J Med 302: 189-193.

Heersche J.N.M., Marcus R. and Aurbach G.D. (1974).
Calcitonin and the formation of 3',5'- AMP in bone and
kidney.
Endocrinology 94: 241-247.

Hemington J.G., Chenoweth M. and Dunn A. (1973).
Cyclic nucleotide phosphodiesterase activity in the plasma
and erythrocytes of normal and diabetic rats.
Biochim Biophys Acta 304: 552-559.

Herman C.A., Zenser T.V. and Davis B.B. (1979).
comparison of the effects of prostaglandin e₁ and prosta-
glandin e₂ stimulation of the rat kidney adenylate cyclase-
cyclic amp systems.
Biochem Biophys Acta 582: 496-503.

- Heynen G., Cecchetti M., Gaspar S., Kanis J. and Franchimont P. (1977).
The effect of B-blockade on ethanol-induced secretion of calcitonin in chronic renal failure.
Calcif Tissue Res 22: 137-141.
- Holmes H. Hamadah K., Hartman G.C. and Parke D.V. (1974).
Diurnal variation of plasma and urinary adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate contents in normal human subjects.
Biochem Soc Trans 2: 456-459.
- Imbert M., Chabardis D., Montégut M., Clique A. and Morel F. (1975).
Adenylate cyclase activity along the rabbit nephron as measured in single isolated segments.
Pflügers arch 354: 213-228.
- Jacob A.J. and Bourgoignie J.F. (1980).
Cimetidine and parathyroid hormone levels.
New Engl J Med 303: 396.
- Jacob A.J., Lanier D., Canterbury J. and Bourgoignie (1980^a)
Reduction by cimetidine of serum parathyroid hormone levels in uremic patients.
New Engl J Med 302: 671-674.
- Jacob A.J., Canterbury J.M. Gavellas G. and Bourgoignie J.J. (1980^b).
Effect of cimetidine on calcium and phosphate homeostasis in normal and uremic dogs.
Clinical Research 28: 450^a.
- Jefferson L.S., Exton J.H., Butcher R.W., Sutherland E.W. and Park C.R. (1968).
Role of adenosine 3',5'-monophosphate in the effects of insulin and anti-insulin.
J Biol Chem 243: 1031-1038.
- Johnson G.L., Kaslow H.R., Farfel Z. and Bourne H.R. (1980).
Genetic analysis of hormone-sensitive adenylate cyclase.
Adv Cyclic Nucleotide Res 13: 1-37.

Jonge H. de (1963).

Inleiding tot de medische statistiek deel 1.

Wolters en Noordhof, Groningen.

Juttman J.R., Visser T.J., Buurman C., de Kam E. and

Birkenhäger J.C. (1981).

Seasonal fluctuations in serum concentrations of vitamin D metabolites in normal subjects.

Br Med J 282: 1349-1351.

Kahn C.R. (1976).

Membrane receptors for hormones and neurotransmitters.

J Cell Biol 70: 261-286.

Kaminsky N.J., Broadus A.E., Hardman J.G., Jones D.J.,

Ball J.H., Sutherland E.W. and Liddle G.W. (1970^a).

Effects of parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3',5'-monophosphate in man.

J Clin Invest 49: 2387-2394.

Kaminsky N.I., Ball J.H., Broadus A.E., Hardman J.G.,

Sutherland E.W. and Liddle G.W. (1970^b).

Hormonal effects on extracellular cyclic nucleotides in man.

Trans Assoc Am Physicians 83: 235-244.

Karlberg B.E., Hendrikson K.G. and Andersson R.G.G. (1974).

Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate concentration in plasma, adipose tissue and skeletal muscle in normal subjects and in patients with hyper and hypothyroidism.

J Clin Endocrinol Metab 39: 96-101.

Keller U. and Berger W. (1980).

Prevention of hypophosphatemia by phosphate infusion during treatment of diabetic ketoacidosis and hyperosmolar coma.

Diabetes 29: 87-95.

Kessler G. and Wolfman M. (1964).

An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus.

Clin Chem 10: 687-703.

King A.C. and Cuatrecasas P. (1981).

Peptide hormone-induced receptor mobility, aggregation, and internalization.

New Engl J Med 305: 77-88.

Klein D.C. and Raisz L.G. (1971).

Role of adenosine - 3',5'-monophosphate in the hormonal regulation of bone resorption studies with cultured fetal bone.

Endocrinology 89: 818-826.

Klotz H.P., Witchitz S. and Kleinman M^{me} (1963).

L'épreuve d'hypocalcémie provoquée par l'E.D.T.A. Na₂ test d'exploration fonctionnelle des parathyroïdes.

Ann Endocrinol (Paris) 24: 1068-1074.

Knochel J.P. (1977).

The pathophysiology and clinical characteristics of severe hypophosphatemia.

Arch Int Med 137: 203-220.

Knochel J.P. (1977).

Hypophosphatemia.

Clin Nephrol 7: 131-137.

Kopp L., Lin T. and Tucci J. (1974).

Circadian rhythms in urinary cyclic adenosine-3',5' monophosphate, creatinine, phosphorus and 17-hydroxycorticosteroids in man.

J Clin Invest 53: 41^a.

Krueger B.K., Forn J. and Greengard P. (1977).

Depolarization-induced phosphorylation of specific proteins, mediated by calcium ion influx, in rat brain synaptosomes.

J Biol Chem 252: 2764-2773.

Kuchel O., Hamet P., Cuche J.L., Tolis G., Frayss J. and Genest J. (1975).

Urinary and plasma cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in patients with idiopathic edema.

J Clin Endocrinol Metab 41: 282-289.

Kuhlbäck B. (1957).

Creatine and creatinine metabolism in thyrotoxicosis and hypothyroidism a clinical study.

Acta Med Scand Suppl 331: 1-70.

Kukreja S.C., Hargis G.K., Rosenthal I.M. and Williams G.A. (1973):

Pheochromocytoma causing excessive parathyroid hormone production and hypercalcemia.

Ann Intern Med 79 : 838-840.

Kukreja S.C., Hargis G.K., Bowser E.N., Henderson W.J., Fisherman E.W. and Williams G.A. (1975):

Role of adrenergic stimuli in parathyroid hormone secretion in man

J Clin Endocrinol Metab 40: 478-481.

Kukreja S.C., Johnson P.A., Ayala G., Banerjee P., Bowser E.N., Hargis G.K. and William G.A. (1976):

Role of calcium and beta-adrenergic system in control of parathyroid hormone secretion.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med 151: 326-328.

Kukreja S.C., Ayala G.A., Banerjee P., Bowser E.N., Hargis G.K. and William G.A. (1980):

Characterization of the B-Adrenergic receptor mediating secretion of parathyroid hormone.

Horm. Metab Res. 12: 334-338.

Kukreja S.C., Shemerdiak W.P., Lad T.E. and Johnson P.A. (1980b):

Elevated nephrogenous cyclic amp with normal serum parathyroid hormone levels in patients with lung cancer.

J. Clin. Endocrinol. Metab 51: 167-169.

Kunitada S., Honma M. and Ui M. (1978):

Increases in plasma cyclic amp dependent on endogenous catecholamines.

Eur. J. Pharmacol 48: 159-169.

Lamberts S.W.J., Timmermans H.A.T., Kramer-Blankestijn M. and Birkenhäger J.C. (1975):

The mechanism of the potentiating effect of glucocorticoids on catecholamine-induced lipolysis.

Metabolism 24: 681-689.

Lands A.M., Arnold A., McAuliff J.P., Luduena F.P. and Brown T.G. (1967):

Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines.

Nature 214: 597-598.

Lanier D., Favre H., Jacob A.J. and Bourgoignie J.J. (1980):
Cimetidine therapy for severe hypercalcemia in two chronic hemodialysis patients.

Ann Intern Med 93: 573-574.

Levine R.A., Lewis S.E., Shulman J. and Washington A. (1969)
Metabolism of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate -8-¹⁴C by isolated perfused rat liver.

J Biol Chem 244: 4017-4022.

Levey G.S. and Epstein S.E. (1969).

Myocardial adenylyl cyclase: activation by thyroid hormones and evidence for two adenylyl cyclase systems.

J Clin Invest 48: 1663-1669.

Levitzki A. (1977).

The role of GTP in the activation of adenylate cyclase.

Biochem Biophys Res Commun 74: 1154-1159.

Liddle G.W. and Hardman J.G. (1971).

Cyclic adenosine monophosphate as a mediator of hormone action.

New Engl J Med 285: 560-566.

Lilienfeld-Toal H.v., Hesch R.D., Hufner M. and McIntosh Chr. (1974).

Excretion of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate in renal insufficiency and primary hyperparathyroidism after stimulation with parathyroid hormone.

Horm Metab Res 6: 314-318.

Lilienfeld-Toal H.v., Mackes K.G., Klehr U. and Dengler H.J. (1978).

Effect of parathyroid extract on renal cyclic AMP excretion in patients with normocalciuric nephrolithiasis.

Horm Metab Res 10: 158-161.

Liljenquist J.E., Bomboy J.D., Lewis S.B.,
Sinclair-Smith B.C., Felts P.W., Lacy W.W., Crofford O.B.
and Liddle G.W. (1974).

Effect of glucagon on net splanchnic cyclic amp production
in normal and diabetic men.

J Clin Invest 53: 198-204.

Lin T. (1978).

Effects of treadmill exercise on plasma and urinary cyclic
adenosine 3',5'-monophosphate.

Horm Metab Res 10: 50-51.

Lin Tu (1979).

Plasma cyclic nucleotide levels in hyperthyroidism.

Acta Endocrinol 90: 62-68.

Lin T., Kopp L.E. and Tucci J.R. (1973).

Urinary excretion of cyclic-3',5'-adenosine monophosphate in
hyperthyroidism.

J Clin Endocrinol Metab 36: 1033-1036.

Ljunghall S., Adami H.O., Björklund O., Enander L.K.,
Gustavsson S., Lööf L., Nordahl A. and Wide L. (1980^a).

Serum concentrations of parathyroid hormone in euparathyroid
subjects during cimetidine treatment.

New Engl J Med 303: 1178-1179.

Ljunghall S., Akerström G., Rudberg C., Wide L. and
Johansson H. (1980^b).

Cimetidine in primary hyperparathyroidism.

Lancet II: 480.

Lockefer J.H., Hackeng W.H.L. and Birkenhäger J.C. (1974).

Parathyroid hormone secretion in disorders of calcium meta-
bolism studied by means of E.D.T.A.

A.C.T.A. Endocrinol 75: 286-296.

Lockefer J.H.M., Juttman J.R. and Birkenhäger J.C. (1977):

The effect of long-term chlorthalidone on stone formation
and stone growth, intestinal absorption of calcium and
secretion of parathyroid hormone in idiopathic
hypercalciuria.

Neth. J. Med 20: 257-262.

Londos C., Salomon Y., Lin M.C., Harwood J.P., Schramm M., Wolff J. and Rodbell M. (1974).

5'-guanylylimidodiphosphate, a potent activator of adenylate cyclase systems in eukaryotic cells.

Proc Natl Acad Sci 71: 3087-3090.

Makman M.H. and Sutherland E.W. (1964).

Use of liver adenyl cyclase for assay of glucagon in human gastrointestinal tract and pancreas.

Endocrinology 75: 127-134.

Makman R.S. and Sutherland E.W. (1965).

Adenosine 3',5'-phosphate in escherichia coli.

J Biol Chem 240: 1309-1314.

Mandel L.R. and Kuehl F.A. (1967).

Lipolytic action of 3,3',5-triiodothyronine, a cyclic amp phosphodiesterase inhibitor.

Biochem Biophys Res Commun 28: 13-24.

Marcus R. (1975).

Cyclic nucleotide phosphodiesterase from bone: characterization of the enzyme and studies of inhibition by thyroid hormones.

Endocrinology 96: 400-408.

Marx S.J. and Aurbach G.D. (1976).

Calcitonin Receptors.

International Congress Series Excerpta Medica 346: 163-171, Amsterdam-Oxford.

Marx S.J., Woodard C.J. and Aurbach G.D. (1972).

Calcitonin receptors of kidney and bone.

Science 178: 999-1000.

Massry S.G., Coburn J.W. and Kleeman C.R. (1969).

The influence of extracellular volume expansion on renal phosphate reabsorption in the dog.

J Clin Invest 48: 1237-1245.

Matthews J.L., Martin J.H., Kennedy J.W. and Collins E.J. (1973).

An ultrastructural study of calcium and phosphate deposition and exchange in tissues.

Ciba foundation Symposium II, 1973 Elsevier-Excerpta Medica Amsterdam 187-199.

Mayer G.P., Habener J.F. and Potts J.T. (1976).

Parathyroid hormone secretion in vivo demonstration of a calcium-independent nonsuppressible component of secretion.

J Clin Invest 57: 678-685.

Mazzuoli G.F. and Naccarato R. (1959).

Modificazioni del metabolismo calcio fosforico da ipocalcemia provocata.

Folia Endocrinologica 12: 366-385.

Melson G.L., Chase L.R. and Aurbach G.D. (1970).

Parathyroid hormonesensitive adenyl cyclase in isolated renal tubules.

Endocrinology 86: 511-518.

Metz S.A., Deftos L.J., Baylink D.J. and Robertson R.P. (1978).

Neuroendocrine modulation of calcitonin and parathyroid hormone in man.

J Clin Endocrinol Metab 47: 151-159.

Minkin C., Fredericks R.S., Pokress S., Rude R.K., Sharp C.F., Tong M. and Singer F.R. (1981).

Bone resorption and humoral hypercalcemia of malignancy: stimulation of bone resorption in vitro by tumor extracts is inhibited by prostaglandin synthesis inhibitors.

J Clin Endocrinol Metab 53: 941-947.

Monard D., Janecek J. and Rickenberg H.V. (1969).

The enzymic degradation of 3',5'-cyclic amp in strains of E.coli sensitive and resistant to catabolite repression, Biochem Biophys Res Commun 35: 584-591.

Munck A. and Foley R. (1979).

Activation of steroid hormone-receptor complexes in intact target cells in physiological conditions.

Nature 278: 752-754.

Mundy G.R., Raisz L.G., Cooper R.A., Schechter G.P.,
Salmon S.E. (1974^a).
Evidence for secretion of an osteoclast stimulating factor
in myeloma.
New Engl J Med 291: 1041-1046.

Mundy G.R., Luben R.A., Raisz L.G., Oppenheim J.J. and
Buell D.N. (1974^b).
Bone-resorbing activity in supernatants from lymphoid cell
lines.
New Engl J Med 290: 867-871.

Mundy G.R. (1978).
Calcium and cancer.
Life Sci 23: 1735-1744.

Murad F.C. (1973).
Clinical studies and applications of cyclic nucleotides.
Adv Cyclic Nucleotide Res 3: 355-383.

Murad F. and Pak Ch.Y.C. (1972).
Urinary excretion of adenosine 3',5'-monophosphate and
guanosine 3',5'-monophosphate.
New Engl J Med 286: 1383-1387.

Murad F., Chi Y.M., Rall T.W. and Sutherland E.W. (1962).
Adenyl cyclase: the effect of catecholamines and choline
esters on the formation of adenosine 3',5'-phosphate by
preparations from cardiac muscle and liver.
J Biol Chem 237: 1233-1238.

Nagata N. and Rasmussen H. (1970).
Parathyroid hormone, 3',5' amp, Ca⁺⁺, and renal gluconeogenesis.
Proc Natl Acad Sci 65: 368-374.

Neelon F.A., Dresner M., Birch B.M., Lebovitz H.E. (1973).
Urinary cyclic adenosine monophosphate as an aid in the
diagnosis of hyperparathyroidism.
Lancet I: 631.

Neer R.M. (1981).
in: "Case records of the massachusetts general hospital".
New Engl J Med 15: 874-883.

Neuman W.F. (1972).
the bone: blood equilibrium: a possible system for its study
in vitro. In "calcium, parathyroid hormone and the
calcitonins".

ed R.V. Talmage en Pl. Munson Amsterdam: Excerpta Medica.

Nilsson O.R., Andersson R.G.G. and Karlberg B.E. (1980).
Effects of propranolol and atenolol on plasma and urinary
cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in hyperthyroid
patients.

Acta Endocrinol 94: 38-45.

Nordin B.E.C.

Calcium, phosphate and magnesium metabolism.
Churchill Livingstone, 1976^a, 226-227.

Nordin B.E.C.

Calcium, phosphate and magnesium metabolism.
Churchill Livingstone, 1976^b, 150-151.

Nordin B.E.C.

Calcium, phosphate and magnesium metabolism.
Churchill Livingstone, 1976^c 251-254.

Nordin B.E.C. and Fraser R. (1954).

The effect of intravenous calcium on phosphate excretion.
Clin Sci 13: 477-490.

Nordin B.E.C. and Peacock M. (1969).

Role of kidney in regulation of plasma calcium.
Lanet II: 1280-1283.

Nordin B.E.C., Hodgkinson A. and Peacock M. (1967).

The measurement and the meaning of urinary calcium.
Clin Orthop 52: 293-322.

O'Dea R.F., Haddox M.K. and Goldberg N.D. (1971).

Interactions with phosphodiesterase of free and kinase-
complexed cyclic adenosine 3',5'-monophosphate.
J Biol Chem 246: 6183-6190.

Okabayashi T., Yoshimoto A. and Ide M. (1963).

Occurrence of nucleotides in culture fluids of micro-
organisms.
J Bacteriol 86: 930-936.

Omenn G.S., Roth S.I. and Baker W.H. (1969).
Hyperparathyroidism associated with malignant tumors of non-
parathyroid origin.
Cancer 24: 1004-1012.

Orloff J. and Handler J.S. (1962).
The similarity of effects of vasopressin, adenosine- 3',5'-
phosphate (cyclic AMP) and theophylline on the toad bladder.
J Clin Invest 41: 702-709.

Owen P. and Moffat A.C. (1973).
Variation of cyclic- A.M.P. excretion with urine volume.
Lancet II: 1205.

Pak Ch.Y.C., Kaplan R., Bone H., Townsend J and Waters O.
(1975).
A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive
and renal hypercalciurias.
New Engl J Med 292: 497-500.

Pak, Charles Y.C. and Galosy.
Fasting urinary calcium and adenosine 3',5'-monophosphate: a
discriminant analysis for the identification of renal and
absorptive hypercalciuriasis.
J Clin Endoc Met 1979 260~

Palmer F.J., Sawyers T.M. and Wierzbinski S.J. (1980).
Cimetidine and hyperparathyroidism.
New Engl J Med 302: 692-.

Parfitt, A.M. (1969).
Study of parathyroid function in man by E.D.T.A. infusion.
J Clin Endocr 29: 569-580.

Parsons J.A. and Robinson C.J. (1971).
Calcium shift into bone causing transient hypocalcaemia
after injection of parathyroid hormone.
Nature 230: 581-582.

Parsons J.A., Neer R.M. and Potts J.T. jr. (1971).
Initial fall of plasma calcium after intravenous injection
of parathyroid hormone.
Endocrinology 89: 735-740.

Patterson W.D., Hardman J.G. and Sutherland E.W. (1971).
Metabolism of Cyclic Nucleotides in rat blood.
Fed Proc 30: 220.

Patterson W.D., Hardman J.G. and Sutherland E.W. (1975).
Hydrolysis of guanosine and adenosine 3',5'-monophosphates
by rat blood.
Biochim Biophys Acta 384: 159-167.

Paul M.I., Cramer H. and Goodwin F.K. (1971).
Urinary cyclic A.M.P. excretion in depression and mania.
Effects of levodopa and lithium carbonate.
Arch Gen Psychiat 24: 327-333.

Peacock M. en Care A.D. (1976).
in: calcium, phosphate and magnesium metabolism; ed.
B.E.C. Nordin; Churchill Livingstone 1976: 205.

Peck W.A. (1979).
Cyclic AMP as a second messenger in the skeletal actions of
parathyroid hormone: a decade old hypothesis.
Calcif Tissue Int 29: 1-4.

Peterkofsky A and Gadzar C. (1971).
Glucose and metabolism of adenosine 3',5'-cyclic monophos-
phate in escherichia coli.
Proc Natl Acad Sci 68: 2794-2798.

Pfeuffer T. (1979).
Guanine nucleotide-controlled interactions between compo-
nents of adenylate cyclase.
Febs Lett 101: 85-89.

Pohl S.L., Birnbaumer L. and Rodbell M. (1971).
The glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma mem-
branes of rat liver.
J Biol Chem 246: 1849-1856.

Pollet R.J. and Levey G.S. (1980).
Principles of membrane receptor physiology and their appli-
cation to clinical medicine.
Ann Intern Med 92: 663-680.

Popovtzer M.M. and Robinette J.B. (1975).
Effect of 25 (OH) vitamin D3 on urinary excretion of cyclic
adenosine monophosphate.
Am J Physiol 229: 907-910.

Popovtzer M.M., Robinette J.B., Deluca H.F. and Holick M.F.
(1974).
The acute effect of 25-hydroxycholecalciferol on renal
handling of phosphorus.
J Clin Invest 53: 913-921.

Popovtzer M.M., Robinette J.B., McDonald K.M. and
Kuruvila C.K. (1975).
Effect of Ca^{++} on renal handling of $PO_4^{=}$: evidence for two
reabsorptive mechanisms.
Am J Physiol 229: 901-906.

Powel D., Singer T.R., Murray T.M., Minkin C. and
Potts J.T. (1973).
Nonparathyroid humoral hypercalcemia in patients with neo-
plastic diseases.
New Engl J Med 289: 176-181.

Powles Tj., Clark S.A., Easty D.M., Easty G.C. and
Neville A.M. (1973).
The inhibition by aspirin and indomethacin of osteolytic
tumour deposits and hypercalcaemia in rats with Walker
tumour and its possible application to human breast cancer.
Br J Cancer 28: 316-321.

Puchett J.B., Moranz J. and Kurnick W.S. (1972).
Evidence for a direct action of cholecalciferol and 25-
hydroxycholecalciferol on the renal transport of phosphate,
sodium and calcium.
J Clin Invest 51: 373-385.

Puschett J.B., Beck W.S., Jelonek A. and Fernandez P.C.
(1974).
Study of the renal tubular interactions of thyrocalcitonin,
cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, 25-hydroxycholecal-
ciferol and calcium ion.
J Clin Invest 53: 756-766.

Raisz L.G., Yajnik C.H., Bockman R.S. and Bower B.F. (1979).
Comparison of commercially available parathyroid hormone
immunoassays in the differential diagnosis of hypercalcemia
due to primary hyperparathyroidism or malignancy.
Ann Intern Med 91: 739-784.

Rall T.W. and Sutherland E.W. (1962).
Adenyl cyclase: the enzymatically catalyzed formation of
adenosine 3',5'-phosphate and inorganic pyrophosphate from
adenosine triphosphate.
J Biol Chem 237: 1228-1232.

Rasmussen H., Pechet M. and Fast D. (1968).
Effects of dibutyryl cyclic adenosine 3',5'-monophosphate,
theophylline, and other nucleotides upon calcium and phos-
phate metabolism.
J Clin Invest 47: 1843-1851.

Raij K., Perheentupa J. and Härkönen M. (1974).
Urinary cyclic adenosine monophosphate excretion in diabetes
insipidus of childhood.
Scand J Clin Lab Invest 34: 177-184.

Rendell M.S., Rodbell M. and Berman M. (1977).
Activation of hepatic adenylate cyclase by guanyl nucleo-
tides.
J Biol Chem 252: 7909-7912.

Rimon G., Hanski E., Braun S., Levitzki A. (1978).
Mode of coupling between hormone receptors and adenylate
cyclase elucidated by modulation of membrane fluidity.
Nature 276: 394-396.

Robertson W.G., Peacock M., Atkins D. and Webster L.A.
(1972).
The effect of parathyroid hormone on the uptake and release
of calcium by bone in tissue culture.
Clin Sci 43: 715-718.

Robinson M.F., Hayles A.B. and Heath III H. (1980).
Failure of cimetidine to affect calcium homeostasis in fami-
lial primary hyperparathyroidism (multiple endocrine neo-
plasia, type 1).
J Clin Endocrinol Metab 51: 912-914.

Rodan G.A., Liberman U.A., Paran M. and Anbar M. (1967).
Lack of physicochemical equilibrium between blood and bone
calcium in the isolated perfused dog limb.
Israel J Med Sci 3: 702-713.

Rodbell M., Krans H.M., Phol S.L. and Birnbaumer L. (1970^a).
The glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma
membranes of rat liver.
J Biol Chem 246: 1872-1876.

Rodbell M., Birnbaumer L. and Pohl S.L. (1970^b).
Adenylyl cyclase in fat cells.
J Biol Chem 245: 718-722.

Rodbell M., Birnbaumer L., Pohl S.L. and Krans H.M.J. (1971).
The glucagon-sensitive adenylyl cyclase system in plasma
membranes of rat liver.
J Biol Chem 246: 1877-1882.

Rodbell M. (1980).
The role of hormone receptors and GTP-regulatory proteins in
membrane transduction.
Nature 284: 17-22.

Rodrigues H.J., Morrisson A., Slatopolsky E. and Klahr S.
(1978).
Adenylyl cyclase of human parathyroid gland.
J Clin Endocrinol Metab 47: 319-324.

Rosen O.M. (1972).
Urinary cyclic amp in graves's disease.
New Engl J Med 287: 670.

Rosenfeld M.G. and O'Malley B.W. (1970).
Steroid hormones: effects on adenylyl cyclase activity and
adenosine 3',5'-monophosphate in target tissues.
Science 168: 253-255.

Ross P.S., Manganiello V.C. and Vaughan M. (1977).
Regulation of cyclic nucleotide phosphodiesterases in cul-
tured hepatoma cells by dexamethasone and N⁶, O², -dibutyryl
adenosine 3',5'-monophosphate.
J Biol Chem 252: 1448-1452.

Ross E.M., Haga T., Howlett A.C., Schwarzmeier J., Schleifer L.S. and Gilman A.G. (1978).
Hormone-sensitive adenylate cyclase: resolution and reconstitution of some components necessary for regulation of the enzyme.

Adv Cyclic Nucleotide Res 9: 53-68.

Rosshberg S., Selstam G. and Isaksson O. (1975).
Characterization of the metabolism of exogenous cyclic AMP by perfused rat heart and incubated prepubertal rat ovary.
Acta Physiol Scand 94: 522-535.

Rubin M. (1963).
The biological implications of alkaline earth chelation in "The transfer of calcium and strontium across Biological membranes".

Ed. R.H. Wasserman; Academic Press, New York: 25-45.

Rude R.K., Sharp C.F., Oldham S.B. and Singer F.R. (1978).
Plasma cyclic amp, urinary cyclic AMP and nephrogenic cyclic AMP in the hypercalcemia of malignancy.
Clinical Research 26: 427^a.

Rude R.K., Sharp C.F., Fredericks jr. R.S., Oldham S.B., Elbaum N., Link J., Irwin L. and Singer F.R. (1981).
Urinary and nephrogenous adenosine 3',5'-monophosphate in the hypercalcemia of malignancy.
J Clin Endocrinol Metab 52: 765-771.

Sagel J., Colwell J.A. Loadholt C.B. and Lizarralde G. (1973).
Circadian rhythm in the urinary excretion of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate in man.
J Clin Endocrinol Metab 37: 570-573.

Salzman E.W. and Weisenberger H. (1972).
Role of cyclic AMP in platelet function.
Adv Cyclic Nucleotide Res 1: 231-247.

Schmidt-Gayk H., Stengel R., Haueisen H., Hufner M., Ritz E. and Jakobs K.H. (1977).
Hyperparathyroidism: influence of glomulair filtration rate on urinary excretion of cyclic AMP.
Klin Wochenschr 55: 275-281.

Schopman W., Hackeng W.H.L. and Lequin R.M. (1970).
A radioimmunoassay for parathyroid hormone in man.
Acta Endocrinol 63: 643-654.

Seyberth H.W., Segre G.V., Morgan J.L., Sweetman B.J.,
Potts J.T. and Oates J.A. (1975).
Prostaglandins as mediators of hypercalcemia associated with
certain types of cancer.
New Engl J Med 293: 1279-1283.

Sharp G.W.G. and Hynie S. (1971).
Stimulation of intestinal adenyl cyclase by cholera toxin.
Nature 229: 266-269.

Shaw J.W., Oldham S.B. Rosoff L., Bethune J.E. and
Fichman M.P. (1977).
Urinary cyclic AMP analyzed as a function of the serum
calcium and parathyroid hormone in the differential diag-
nosis of hypercalcemia.
J Clin Invest 59: 14-21.

Sherwood L.M., O'Riordan J.L.H., Aurbach G.D. and
Potts J.T. (1967).
Productions of parathyroid hormone by nonparathyroid tumors.
J Clin Endocrinol Metab 27: 140-146.

Sherwood J., Reinhard D. and Garcia M. (1979).
Does cimetidine inhibit parathyroid hormone secretion?
New Engl J Med 300: 200-201.

Sherwood J.K., Ackroyd F.W. and Garcia M. (1980^a).
Effect of cimetidine on circulating parathyroid hormone in
primary hyperparathyroidism.
Lancet I: 616-619.

Sherwood J.K., Ackroyd F.W. and Garcia M. (1980^b).
Cimetidine in hyperparathyroidism.
Lancet I: 1298.

Singer S.J. and Nicolson L. (1972).
The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.
Science 175: 720-731.

Sisson de Castro J.A. and Tucci J.R. (1980).
Extracellular cyclic AMP in osteomalacia.
Acta Endocrinol 95: 282-288.

Soffer A. and Toribara T. (1961).
Changes in serum and spinal fluid calcium effected by disodium ethylenediaminetetraacetate.
J Lab Clin Med 58: 542-547.

Sovik O., Aksnes L. and Apold J. (1976).
Urinary cyclic AMP: high concentrations in vitamin D-deficient and D-dependent rickets.
J of Pediatrics 89: 946-949.

Spencer H., Greenberg J., Berger E., Perrone M. and Laszlo D. (1956).
Studies on the effect of ethylenediaminetetraacetic acid in hypercalcemia.
J Lab Clin Med 47: 29-41.

Spiegel A.M., Eastman S.T., Attie M.F., Downs R.W., Levine M.A., Marx S.J., Stock J.L., Saxe A.W., Brennan M.F. and Aurbach G.D. (1980).
Intraoperative measurements of urinary cyclic amp to guide surgery for primary hyperparathyroidism.
New Engl J Med 303: 1457-1460.

Steele T.H. (1970).
Increased urinary phosphate excretion following volume expansion in normal man.
Metabolism 19: 129-139.

Steward A.F., Horst R., Deftos L., Cadman E., Lang R., Rasmussen H., Broadus A.E. (1979).
A non-PTH renotropic factor in humoral hypercalcemia of malignancy.
Clinical Research 27: 377^a.

Steward A.F., Horst R., Deftos L., Cadman E.C., Lang R. and Broadus A.E. (1980^a).
Biochemical evaluation of patients with cancer-associated hypercalcemia.
N Engl J Med 303: 1377-1383.

Steward A.F., Goltzman D., Deftos L., Vignery A., Horst R., Kirkwood J. and Broadus A.E. (1980^b).
Humoral hypercalcemia of malignancy: further study of the mediator in vivo and in vitro^b.
Clinical Research 28: 407^a.

Stossel T.P., Murad F., Mason R.J. and Vaughan M. (1970).
Regulation of glycogen metabolism in polymorphonuclear leucocytes.
J Biol Chem 245: 6228-6234.

Strange R.C., Vetter N., Rowe M.J. and Oliver M.F. (1974).
Plasma cyclic amp and total catecholamines during acute myocardial infarction in man.
Europ J Clin Invest 4: 115-119.

Strange R.C. and Percy-Robb I.W. (1975).
Hepatic Clearance of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate from plasma in the rat.
Biochem J 146: 509-512.

Streeto J.M. (1969).
Renal cortical adenylyl cyclase: effect of parathyroid hormone and calcium.
Metabolism 18: 968-973.

Suki W.N., Martinez-Maldonado M., Rouse D. and Terry A. (1969).
Effect of expansion of extracellular fluid volume on renal phosphate handling.
J Clin Invest 48: 1888-1894.

Sutherland E.W. and Rall T.W. (1957).
The properties of an adenine ribonucleotide produced with cellular particles ATP, Mg^{++} , and epinephrine or glucagon.
J of the American Chem Soc 79: 3608.

Sutherland E.W. and Rall T.W. (1960).
The relation of adenosine 3',5'-phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones.
Pharmacol Rev 12: 265-299.

Sutherland E.W. and Robinson G.A. (1966).
Metabolic effects of catecholamines.
Pharmacol Rev 18: 145-161.

Sutherland E.W., Rall T.W. and Menon T. (1962).
Adenyl Cyclase: distribution, preparation and properties.
J Biol Chem 237: 1220-1227.

Sutherland E.W., Oye² J. and Butcher R.W. (1965).
The action of epinephrine and the role of the adenyl cyclase
system in hormone action.
Recent Prog Horm Res 21: 623-647.

Swinton N.W., Clerkin E.P. and Flint L.D. (1972).
Hypercalcemia and familial pheochromocytoma.
Ann Intern Med 76: 455-457.

Takahashi K., Kamimura M., Shinko T. and Tsuji S. (1966).
Effects of vasopressin and waterload on urinary adenosine
3',5'-cyclic monophosphate.
Lancet 967.

Tao M., Salas M.L. and Lipmann F. (1970).
Mechanism of activation by adenosine 3':5'-cyclic monophos-
phate of a protein phosphokinase from rabbit reticulocytes.
Proc Natl Acad Sci 67: 408-414.

Tashjian A.H. Jr. (1978).
Role of prostaglandins in the production of hypercalcemia by
tumors.
Cancer Res 38: 4138-4141.

Taylor A.L., Davis B.B., Pawlson G., Josimovich J.B. and
Mintz D.H. (1970).
Factors influencing the urinary excretion of 3',5'-adenosine
monophosphate in humans.
J Clin Endocr 30: 316-324.

Thompson E.B. and Lippman M.E. (1974).
Mechanism of action of glucorticoids.
Metabolism 23: 159-202.

Tomlinson S., Hendy G.N., Pemberton D.M. and O'Riordan J.L.H. (1975).
Reversible resistance to the renal action of parathyroid hormone in man.
Clin Sci 51: 59-69.

Tovey K.C., Oldham K.G. and Whelan J.A.M. (1974).
A simple direct assay for cyclic AMP in plasma and other biological samples using a improved competitive protein binding technique.
Clin Chim Acta 56: 221-234.

Tucci J.R. and Kopp L. (1976).
Urinary cyclic nucleotide levels in patients with hyper and hypothyroidism.
J Clin Endocrinol Metab 43: 1323-1329.

Tucci J.R., Perlstein R.S. and Kopp L.E. (1979).
The urine cyclic AMP response to parathyroid extract (P.T.E.) administration in normal subjects and patients with parathyroid dysfunction.
Metabolism 28: 814-819.

Turinsky J. (1973).
Study on plasma cyclic nucleotide concentrations in fasting rats.
Proc Soc Exp Biol Med 245: 1189-1191.

Turpin B.P., Austin M.W. and Solomon S.S. (1978).
Urinary and plasma cyclic amp levels during short term starvation in obese man: response to glucagon stimulation.
Horm Metab Res 10: 36-37.

Vaes G. (1968).
Parathyroid hormone-like action of N6-2-0-dibutyryladenosine-3',5' (cyclic)-monophosphate on bone explants in tissue culture.
Nature 219: 939-940.

- Vainsel M., Mandelier Th. and Otten J. (1976).
Urinary excretion of adenosine 3',5'-monophosphate in vitamin d deficiency.
Europ J Clin Invest 6: 127-130.
- Verhoeven R.P. (1978).
Hypercirculatie by hyperthyreoidie een klinische studie over de invloed van het beta-adrenergische systeem.
Academisch proefschrift Rotterdam.
- Vora N.M., Williams G.A., Hargis G.K., Bowser E.N., Kawahara W., Jackson B.L., Henderson W.J. and Kukreja S.C. (1978).
Comparatieve effect of calcium and of the adrenergic system on calcitonin secretion in man.
J Clin Endocrinol Metab 46: 567-571.
- Walton R.J. and Bijvoet O.L.M. (1975).
Nomogram for derivation of renal threshold phosphate concentration.
Lancet II 309.
- Wehmann R.E., Blonde L. and Steiner A.L. (1974).
Sources of cyclic nucleotides in plasma.
J Clin Invest 53: 173-179.
- Weiss B. and Crayton J. (1970).
Gonadal hormones as regulators of pineal adenyl cyclase activity.
Endocrinology 87: 527-533.
- Wells H. and Lloyd W. (1969).
Hypercalcemic and hypophosphatemic effects of dibutyryl cyclic amp in rats after parathyroidectomy.
Endocrinology 84: 861-867.
- Welton A.F., Lad P.M., Newby A.C., Yamamura H. Nicosia S. and Rodbell M. (1977).
Solubilization and separation of the glucagon receptor and adenylate cyclase in guanine nucleotide-sensitive states.
J Biol Chem 252: 5947-5950.
- Williams R.H., Barish J. and Ensink J.W. (1972).
Hormone effects upon cyclic nucleotide excretion in man.
Proc Soc Exp Biol Med 139: 447-454.

Williams G.A., Hargis G.K., Bowser E.N., Henderson W.J. and Martinez N.J. (1973).

Evidence for a role of adenosine 3',5'-monophosphate in parathyroid hormone release.

Endocrinology 92: 687-691.

Williams G.A., Kukreja S.C., Banerjee P., Ayala G., Hargis G., Bowser E. and Henderson W.J. (1975).

Effect of B adrenergic stimuli on parathyroid hormone secretion in primary and secondary hyperparathyroidism.

Clin Res 23: 539^a.

Williams G.A., Kukreja S.C., Hargis G.K., Bowser E.N., Banerjee P., Vora N. and Henderson W.J. (1976).

Dual control of suppressibility of parathyroid hormone secretion by calcium and β -adrenergic blockade in man.

Clinical Research 24: 585^a.

Williams G.A., Longley R.S., Bowser E.N., Hargis G.K., Kukreja S.C., Vora N.M., Johnson P.A., Jackson B.L., Kawahara W.J. and Henderson W.J. (1981).

Parathyroid hormone secretion in normal man and in primary hyperparathyroidism: role of histamine H₂ receptors.

J Clin Endocrinol Metab 52: 123-127.

Yeghiayan E., Rojo-Ortega J.M. and Genest J. (1972).

Parathyroid vessel innervation: an ultrastructural study.

J Anat 112: 137-142.

Zamrazil V., Nemec J., Neradilová M., Blahosová and Havelka J. (1980).

Changes of serum calcium level after glucose load.

Horm Metab Res 12: 225-227.

Zumstein P., Zapf J. and Froesch E.R. (1974).

Effects of hormones on cyclic amp release from rat adipose tissue in vitro.

FEBS Lett 49: 65-69.

CURRICULUM VITAE

De schrijver van dit proefschrift werd op 8 maart 1950 te Schiedam geboren. Hij doorliep de middelbare school aan het Groen van Prinsterer Lyceum te Vlaardingen, waar in 1967 het eindexamen HBS-B werd behaald. In september 1967 begon hij zijn medische studie aan de toenmalige Medische Faculteit Rotterdam, alwaar in april 1974 het artsexamen werd afgelegd.

In 1970 werkte hij als keuzepracticant op de afdeling neurofysiologie van de Medische Faculteit Rotterdam mee aan een onderzoek naar het bestaan van propriospinale banen in het ruggemerg van de kat (Dr. S. Miller). In de periode oktober 1973 tot april 1974 was hij als stagist werkzaam in het Mlambe Hospital, Lunzu, Malawi waarbij o.a. meegewerkt werd aan een project dat beoogde de cholera uit zuid Malawi te elimineren.

Na assistentschappen algemene chirurgie (Nicolaas Tulp Ziekenhuis, Amstelveen, Dr. J. Kriek en Bethel Ziekenhuis, Delft, Dr. C.A. Broodman en Dr. M.A. Verschuyl) en gynaecologie-obstetrie (Eudokia Ziekenhuis, Rotterdam. Dr. J. Kal) was hij in de periode december 1975 tot juli 1978 als "medical officer" werkzaam in het St. Elizabeth Hospital, Hwidiem, Ghana.

De opleiding tot internist werd in augustus 1978 begonnen op de afdeling Interne Geneeskunde van de Dr. Daniel den Hoed kliniek te Rotterdam (Dr. R. Treurniet) en vanaf december 1978 voortgezet op de afdeling Interne Geneeskunde van het Bergwegziekenhuis te Rotterdam (Dr. G.J.H. den Ottolander en Dr. J. Silberbusch).